

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des sciences alimentaires
Spécialité Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Optimisation de l'extraction des composés
phénoliques à partir des feuilles de laurier**

Présenté par :

Mlle. Belkhir Cylia & Mlle. Djahnine Kahina

Soutenu le : 30/06/2019

Devant le jury composé de :

Mme. Oukil. N
Mme. Guemghar. H
Mme. Smail. L

MCA
MCA
MAA

Président
Encadreur
Examinatrice

Année universitaire : 2018 / 2019

Remerciements

Au terme de notre travail, nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères Au bon Dieu pour la patience et la santé qui nous ont été utiles tout au long de notre parcours.

*Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à notre promotrice **Mme Guemghar. H** pour son aide précieuse et ses conseils avisés autant que pour sa disponibilité que pour le temps qu'elle nous a consacré.*

*Nous remercions également **Mme Oukil. N** qui a bien voulu présider le jury.*

*Ainsi que **Mme Smail. L** pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

Enfin nous tenons à remercier profondément nos chers parents pour leur soutien moral et matériel durant nos études ainsi que toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Je dédie ce modeste travail

***A mes très chers parents qui ont été toujours à mes coté et qui mon
donné la patience et l'envie d'accomplir ma formation***

A ma sœur Sara et mon frère Yanis

A mes grands-mères Houria, Fatma et mon grand-père

Abderrahmane

A la mémoire de mon grand-père Ali

A mes oncles, tantes et leurs familles

A mon petit Silas

A mes chères amis et amies : Walid, Salwa, Sonia.

***A tous ceux qui m'ont soutenue : Foudil, Sabrina, Sara et leurs
familles***

A ma binôme Djahnine Kahina et toute sa famille

A tous les étudiants de la promotion QPSA 2019

Cylia Belkhir



Je dédié ce modeste travail tout d'abord à mon cher père Nasser

A ma très chère Maman Zakia

Surtout à mon Mari Mustapha

A mes très chers frères lamine, Walid, Hilal

A mes très chères sœurs Karima Lynda Nabila Chanez

A mes belles sœurs noria Farida et toute la famille Touati

A tous mes amis et amies et spécialement Hanane Wanza Loubna

A ma binôme Cylia

A toute l'équipe de l'athlétisme depuis 2013 à 2019 sans exception a toute la promotion science alimentaire 2018-2019

Liste des abréviations

- ANOVA:** Analysis of Variance
- BHA :** Hydroxy-anisole butyle
- CCD :** Central composite design (plan composite centré)
- CPT :** Composés phénoliques totaux
- DPPH:** 2, 2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl
- EAG:** Equivalent acide gallique
- EC:** Equivalent catéchine
- HPLC :** High performance liquid chromatographie
- MSR :** méthodologie de surface de réponse
- PS:** poudre sèche
- TCA :** acide trichloracétique

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Arbuste du laurier..... | 3 |
| Figure 2 : Feuilles du laurier..... | 3 |
| Figure 3 : Laurier fleurissant..... | 3 |
| Figure 4 : Baies entières et coupées de laurier..... | 4 |
| Figure 5 : Dérivés d'acides phénoliques..... | 7 |
| Figure 6 : Dérivés de flavonoïdes..... | 8 |
| Figure 7 : Composées isolées de l'infusion de laurier noble..... | 10 |
| Figure 8 : Domaine de variation du facteur..... | 14 |
| Figure 9 : Points du domaine d'étude et leurs surfaces Réponse..... | 15 |
| Figure 10 : Feuilles de laurier fraîches..... | 17 |
| Figure 11 : Feuilles de laurier sèches..... | 17 |
| Figure 12 : Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus avec les différents temps..... | 23 |
| Figure 13 : Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus avec les différentes concentrations en éthanol..... | 24 |
| Figure 14 : Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus à différentes températures..... | 25 |
| Figure 15 : Teneurs en composées phénoliques des extraits obtenus à différents ratio.... | 26 |
| Figure 16 : Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus après plusieurs extractions..... | 26 |
| Figure 17 : Plan de prédiction réelle..... | 29 |

Figure 18 : Surface de réponse pour l'effet du temps et de la température d'extraction sur les CPT du laurier.....31

Figure 19 : Surface de réponse pour l'effet du temps d'extraction et de la concentration d'éthanol sur les CPT du laurier.....31

Figure 20 : Surface de réponse pour l'effet de la température d'extraction et la concentration du solvant sur les CPT du laurier.....32

Figure 21 : Valeurs des paramètres optimaux de l'extraction des composés phénoliques.33

Figure 22 : Capacité réductrice de trois extraits (laurier, acide ascorbique et BHA).....34

Liste des tableaux

Tableau I : Principales classes des composés phénoliques.....6

Tableau II : Les principaux composés phénoliques identifiés après leurs isoléments à partir des feuilles de laurier.....9

Tableau III : Variable indépendantes codées et réelles utilisées pour l'optimisation.....21

Tableau IV : Paramètres étudiés dans la phase préliminaire.....22

Tableau V : Plan d'essai des trois facteurs utilisés par MSR.....27

Tableau VI : ANOVA pou l'effet des trois variables sur la teneur en CPT.....28

Tableau VII : Paramètres de l'ajustement du model.....30

Tableau VIII : Comparaison entre les valeurs expérimental et prédite en termes de teneur en CPT pour les paramètres optimaux.....33

Tableau IX : Teneurs en CPT et flavonoïdes de feuilles de laurier.....34

Tableau X : IC₅₀ des trois extraits (laurier, acide ascorbique et BHA).....35

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

| | |
|-------------------|---|
| Introduction..... | 1 |
|-------------------|---|

Chapitre I : Le laurier noble

| | |
|---|---|
| I.1.Historique..... | 2 |
| I.2.Description | 2 |
| I.3.Classification..... | 4 |
| I.4. Répartition géographique et habitat..... | 4 |
| I.5.Utilisation..... | 5 |

Chapitre II : Composés phénoliques

| | |
|---|----|
| II.1.Généralités..... | 6 |
| II.2.Classification..... | 6 |
| II.2.1.Acides phénoliques..... | 7 |
| II.2.2.Flavonoïdes | 7 |
| II.3.Composés phénoliques du laurier..... | 8 |
| II.4.Rôle des composés phénoliques..... | 10 |
| II.4.1.Rôle dans la plante..... | 10 |
| II.4.2.Rôle dans la physiologie humaine..... | 11 |
| II.5.Mécanisme d'action des composés phénoliques..... | 11 |

Chapitre III : Méthodologie de surface de réponse

| | |
|--|----|
| III.1.Optimisation..... | 13 |
| III.2.Définition du plan d'expérience..... | 13 |

| | |
|---|----|
| III.3. Notions fondamentales..... | 14 |
| III.3.1. Notion de l'espace expérimentale..... | 14 |
| III.3.2. Notion de surface de réponse..... | 14 |
| III.3.3. Notion de modélisation mathématique..... | 15 |

Chapitre IV : Matériels et méthodes

| | |
|---|----|
| IV.1. Problématique et objectifs..... | 17 |
| IV.1.1. Matériel végétal..... | 17 |
| IV.2. Humidité..... | 18 |
| IV.3. Extraction des composés phénoliques..... | 18 |
| IV.3.1. Dosage des polyphénols totaux..... | 18 |
| IV.3.2. Dosage des flavonoïdes..... | 19 |
| IV.4. Détermination de l'activité antioxydante..... | 19 |
| IV.4.1. Pouvoir réducteur..... | 19 |
| IV.4.2. Activité anti radicalaire..... | 20 |
| IV.5. Etude statistique..... | 20 |

Chapitre V : Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| V.1. Etude préliminaire..... | 22 |
| V.1.1. Sélection des niveaux approprié pour les variables d'extraction des CPT..... | 22 |
| V.1.1.1. Temps d'extraction..... | 22 |
| V.1.1.2. Solvant d'extraction..... | 23 |
| V.1.1.3. Température d'extraction..... | 24 |
| V.1.1.4. Le ratio..... | 25 |
| V.1.1.5. Nombre d'extraction..... | 26 |
| V.2. Etude d'optimisation..... | 27 |

| | |
|--|----|
| V.2.1. Plan d'expérience..... | 27 |
| V.2.2. Analyse de la variance..... | 28 |
| V.2.2.1. Ajustement du model..... | 28 |
| V.2.2.2. Optimisation des condition d'extraction..... | 30 |
| V.3. Conditions optimales d'extraction des composés phénoliques à partir de laurier..... | 33 |
| V.3.1. Validation du model..... | 34 |
| V.4. Composition de l'extrait de laurier..... | 34 |
| V.4.1. Teneur en flavonoïdes..... | 35 |
| V.4.2. Activité antioxydante..... | 35 |
| V.4.2.1. Pouvoir réducteur..... | 35 |
| V.4.2.2. Activité anti radicalaire DPPH..... | 36 |
| Conclusion | 37 |

Références bibliographiques

Annexes



Introduction

Depuis la nuit des temps, les Hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. A travers les siècles les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales **(Paul et al., 2001)**.

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie cosmétologique, en dermopharmacie et dans l'industrie agro-alimentaire. Parmi ces composés, les composés phénoliques qui constituent une famille de métabolites secondaires omniprésents dans le règne végétal. Les nombreuses propriétés de ces composées relatives à la santé, largement décrites dans des études épidémiologiques, sont principalement fondées sur leurs activités antioxydantes **(El-Haci et al., 2012)**.

Le laurier noble est un arbre à feuillage persistant, les huiles essentielles des feuilles séchées, sont largement utilisées comme épice, et aromatisant précieux dans l'industrie culinaire et agro-alimentaire. En outre, l'extrait aqueux est utilisé en médecine traditionnelle comme antirhumatismale, et diurétique. Ces capacités biologiques ont été attribuées à une large gamme de composés phytochimiques tel que les acides phénoliques, et les flavonoïdes. La constitution considérable du laurier en composés phénoliques lui confère la propriété d'être une bonne source d'antioxydants naturel, et un antimicrobien efficace **(Muñiz-Márquez et al., 2013)**.

Le but de cette étude est d'optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques totaux du laurier noble. Une étude préliminaire sur les facteurs qui peuvent influencer le rendement de cette extraction, tels que la concentration du solvant, la température, la durée de macération, le ratio et le nombre de répétition de l'extraction ont été étudiés afin de déterminer les niveaux utilisés pour l'optimisation. Un plan d'expérience a été suivi en utilisant la méthodologie de surface de réponse sur trois facteurs à savoir ; le temps d'extraction ; la température d'extraction et la proportion du solvant d'extraction en raison de déterminer les conditions optimales pour obtenir l'extrait final et l'évaluation de son activité antioxydante.



Chapitre I

laurier noble

I.1. Historique :

Dès l'antiquité, le laurier était cultivé par les Grecs et les Romains dans toutes les régions méditerranéennes. Il semble qu'il ait d'abord retenu l'attention pour ses propriétés cosmétologiques ; il est utilisé par les personnes âgées pour garder une chevelure noire. Il n'a pris ses lettres de noblesse culinaire qu'avec les romains. Les traditions gastronomiques du laurier sont tout aussi anciennes, ses baies et ses feuilles étaient considérées comme épice indispensable par Apicius dès le 1^{er} siècle de notre ère. Elles étaient exportées vers l'Europe au début du moyen âge, et elles figuraient souvent dans des livres de médecine. Elles étaient aussi d'un usage curatif (maladies gastrique, affections des reins et de la peau) (**Gilly, 2005; Swahn and Ciano, 1993; Teuscher et al., 2005**).

Les couronnes de laurier étaient un symbole de victoire aux jeux athlétiques, celles des triomphes militaires. Le terme académique baccalauréat qui vient du latin « bacca Lauri », baies de laurier, est étroitement associé au laurier qui devient ainsi l'emblème de la remise des diplômes dans des universités de certains pays (**Swahn and Ciano, 1993**).

I.2. Description :

Le laurier de nom scientifique *laurus nobilis* L est une plante aromatique, qui pousse à l'état sauvage ou cultivé. Laurus, nom latin d'origine Celte qui veut dire « toujours verte » allusion au feuillage persistant (**Karima et al., 2015; Nayak et al., 2006**).

Le laurier d'apollon, ou laurier –sauce, et surtout laurier noble, est bien connu de par son usage fréquent dans les cuisines. Le laurier est un arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10 mètre de hauteur à croissance lente, et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissent au fil du temps. L'écorce est noire à gris foncé et lisse. Ces branches remontent en oblique avec des jeunes pousses fines, glabre et brun rougeâtre dont les bourgeons sont étroits, vert rougeâtre et long de 0.2 à 0.4 cm (**figure 1**) (**Quezel and Santa, 1963**).

- Non vernaculaire du laurier :

-Laurier noble

-Laurier d'Apollon

-Laurier sauce



Figure 1 : Arbuste du laurier (photographie)

Le feuillage est persistant avec des feuilles aromatiques, simples, alternes et coriaces dont le pétiole mesure de 2 à 5 cm de long, les feuilles de 5 à 12 cm de long et de 2 à 6 cm de large. Ils sont lancéolés, légèrement ondulés et entaillés au bord ; de couleur vert foncé, brillantes sur la face supérieure et verte claire au-dessous avec des nervures latérales pennées et rougeâtres (**figure 2**). Les fleurs, petites, mâles et femelles, sont jaune ou d'un blanc verdâtre (**figure 3**) (Quezel and Santa, 1963; Swahn and Ciano, 1993).



Figure 2 : Feuilles du laurier (photographie) **Figure 3** : Laurier fleurissant (photographie)

Le fruit (juin-novembre) est une baie plus ou moins sphérique (12mm de diamètre) noir brillant, à pédoncule très court, presque sans chair, avec une grosse graine brune sphérique (11mm de diamètre) à odeur très forte (**figure 4**) (Reynaud, 2002).



Figure 4 : Baies entières et coupées de laurier (**Briot, 2016**)

I.3. Classification (taxonomie) :

La classification botanique ci-dessous montre que le laurier appartient à la famille des lauracées de *laurus nobilis* (**Quezel et Santa 1963**). Cette famille renferme 32 genres et environ 2000 à 2500 espèces (**Karima et al., 2015**).

| | |
|-----------------------------|-------------------------|
| Règne : | Plantes |
| Sous règne : | Plantes vasculaire |
| Embranchement : | Spermaphytes |
| Sous embranchement : | Angiospermes |
| Classe : | Dicotylédones |
| Sous classe : | Dialypétales |
| Ordre : | Laurales |
| Famille : | Lauracées |
| Genre : | <i>Laurus</i> |
| Espèce : | <i>Laurus nobilis</i> L |

I.4. Répartition géographique et habitat :

Originnaire d'Asie mineure d'où il fut importé par les grecs et les romains, le laurier s'est ensuite répandu dans l'ensemble du bassin méditerranéen ainsi qu'en Inde. En Europe centrale, il est cultivé dans des bacs car il supporte mal les hivers froids (**Briot, 2016**).

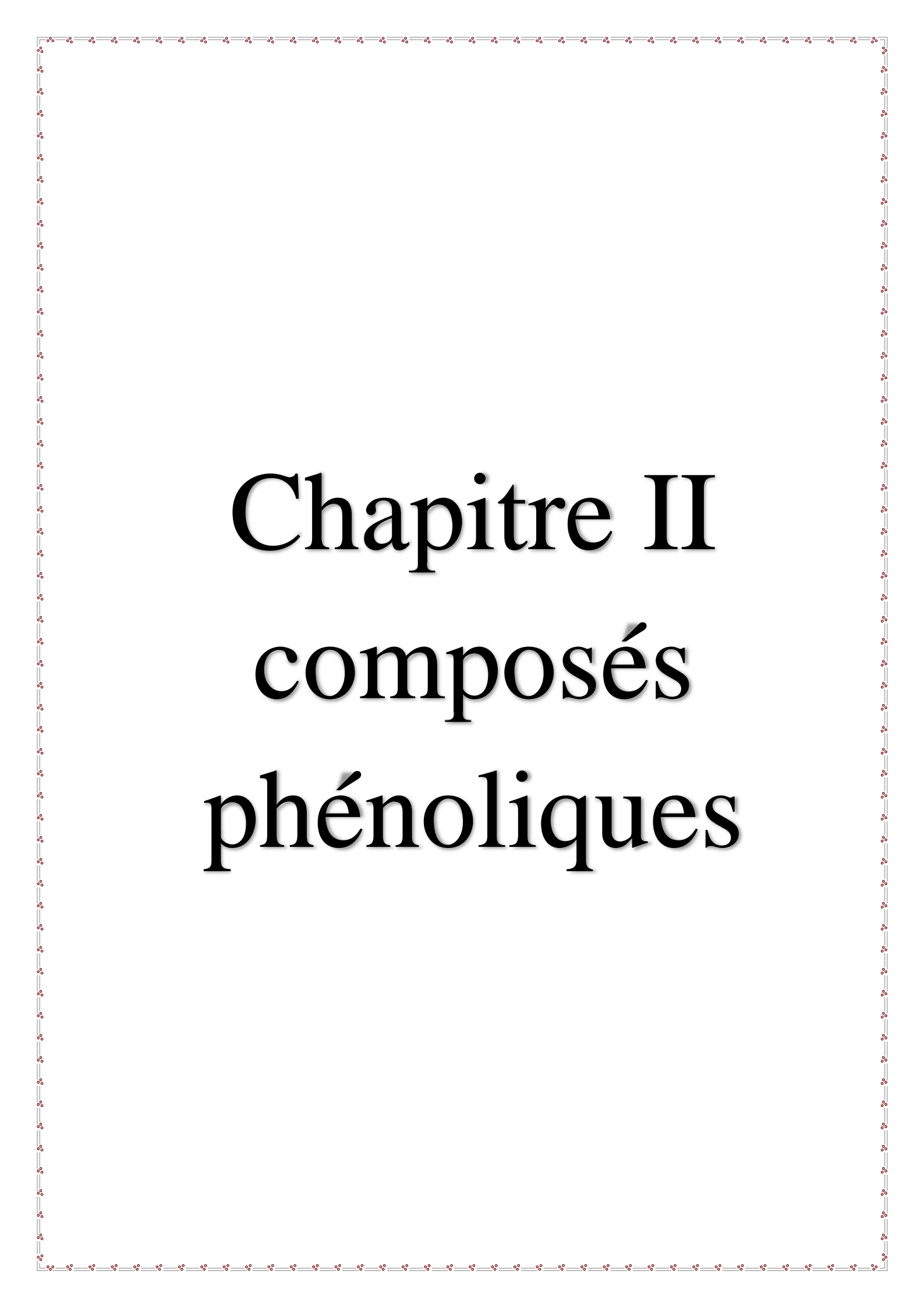
C'est une espèce affectionnant particulièrement les hivers doux avec des températures ne descendant pas sous les -5 C° . Les conditions idéales sont les endroits ensoleillés et protégés du vent, même si elle tolère l'ombre. Concernant l'humidité, la plante ne supporte

pas la sécheresse prolongée ; il lui faudra au minimum 600 mm de précipitations par ans. Excepté les sols trop acides, le laurier s'adapte à tout type de sol. Il se développe aisément dans les sols profonds et humides toute l'année. Le sol type doit être riche en nutriments, en humus et en bases avec un pH proche de la neutralité (**Teuscher et al., 2005**).

I.5. Utilisation :

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis l'antiquité dans la médecine et la cuisine traditionnelle, mais aussi dans de nouvelles préparations pharmaceutiques. Le laurier noble est une plante très cultivée dans les jardins pour son feuillage aromatique utilisé, comme condiment qui ne présente aucune toxicité aux doses usuelles, comme parfum et arôme dans les plats de viande, les ragouts, et le riz, et comme plante ornementale dans les parcs (**Dias et al., 2014; Reynaud, 2002**).

Les feuilles de laurier sont souvent utilisées comme médicaments contre l'asthme, les maladies cardiaques, troubles digestifs, diarrhées, douleurs rhumatismales et anti-ulcérogène. Les huiles essentielles de feuilles et de graines peuvent inhiber la prolifération in vitro des cellules K562 (cellules de leucémie myéloïde chronique humaine), et présentent une activité de piégeage radicalaire et antioxydant (**Afifi et al., 1997; Julianti et al., 2012; Saab et al., 2012**).



Chapitre II

composés phénoliques

II.1. Généralités :

Les polyphénols constituent le plus grand groupe de composés photochimiques, et beaucoup d'entre eux ont été trouvés dans des aliments à base de plantes. Les régimes riches en polyphénols ont été associés à de nombreux avantages pour la santé (Tsao, 2010).

Les polyphénols constituent un groupe important de composés issue de végétaux, pouvant être divisés en plusieurs catégories. Les catégories principales sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignanes et les stilbens (Jakobek and Matic, 2018).

II.2. Classification :

Les polyphénols, avec plus de 8000 variantes structurales, et parmi eux plus de 4000 flavonoïdes ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux, bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques, portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (tableau I), qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées) (Macheix et al., 2005)(Rahman et al., 2006; Tsao, 2010).

Néanmoins, la majorité des polyphénols dans les plantes existent sous forme de glycosides avec différentes unités de sucre, et de sucres acylés à différentes positions des squelettes du polyphénol (Tsao, 2010).

Tableau I : Principales classes des composés phénoliques (Macheix, 1996).

| nombre d'atome de carbone | Squelette de base | classe | exemple | Plante alimentaire (exemple) |
|---------------------------|--|--|---------------------------------------|--------------------------------|
| 6 | C ₆ | Phénol simple | catéchol | |
| 7 | C ₆ -C ₁ | A.hydroxybenzoïque | Acide gallique | -Epices Fraise |
| 9 | C ₆ -C ₃ | A.hydroxycinnamique -coumarines | -Acide caféique -scopoline | Pomme P.de terre -Citrus |
| 10 | C ₆ -C ₄ | naphthoquinones | juglone | Noix |
| 13 | C ₆ -C ₁ -C ₆ | -xanthones | -mangiférine | Mangue |
| 15 | C ₆ -C ₃ -C ₆ | -Flavonoïdes -Iso-flavonoïdes | -Quercétol -cyanidol -daidzeine | -Fruits, Légumes -Soja |

| | | | | |
|---|-----------|-----------|--|-------------------------|
| n | (C6-C3) n | -lignines | | -Fruit a noyau |
| n | (C15) n | -tannins | | -Raisin rouge, -Kaki |

II.2.1. Acides phénoliques :

Sont des composés poly-phénoliques non flavonoïdes, qui peuvent être divisés en deux types principaux, dérivés d'acide benzoïque et d'acide cinnamique (**figure 5**) à base de squelettes en C₁-C₆ et en C₃-C₆ respectivement. Bien que les fruits et les légumes contiennent de nombreux acides phénoliques libres, les graines en particuliers dans le son ou la coque, ils sont souvent sous la forme liée, et ne peuvent être libérés ou hydrolysés que par hydrolyse acide ou alcaline, ou par des enzymes (Tsao, 2010).

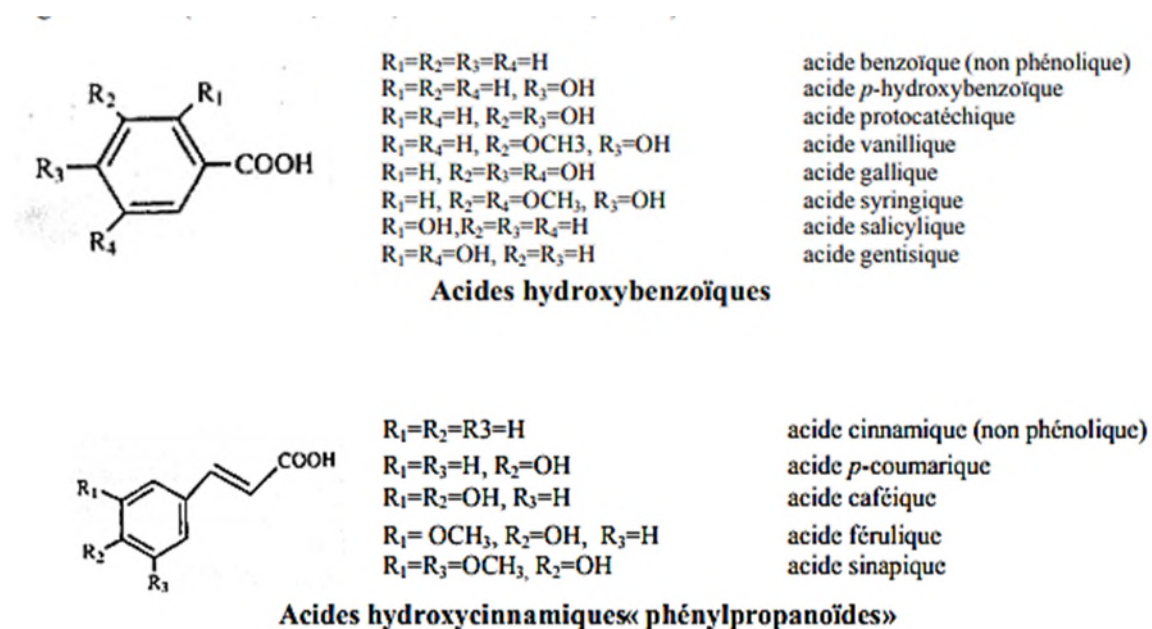


Figure 5 : Dérivés d'acides phénoliques (Macheix et al., 2005).

II.2.2. Flavonoïdes :

L'ensemble des flavonoïdes, de structure générale en C₁₅ (C₆-C₃-C₆), comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes ; dont certaines ont une très grande importance biologique et technologique : Les anthocyanes, pigments rouges ou bleus, les flavones et flavonols, de couleur crème ou jaune clair. Dont les produits de

condensation sont à l'origine d'un groupe important de tannins. Les iso-flavones qui jouent un rôle dans la santé humaine. C'est d'abord la structure de l'hétérocycle centrale et son degré d'oxydation qui permettent de distinguer les différentes classes de flavonoïdes (**figure 6**) (Macheix *et al.*, 2005).

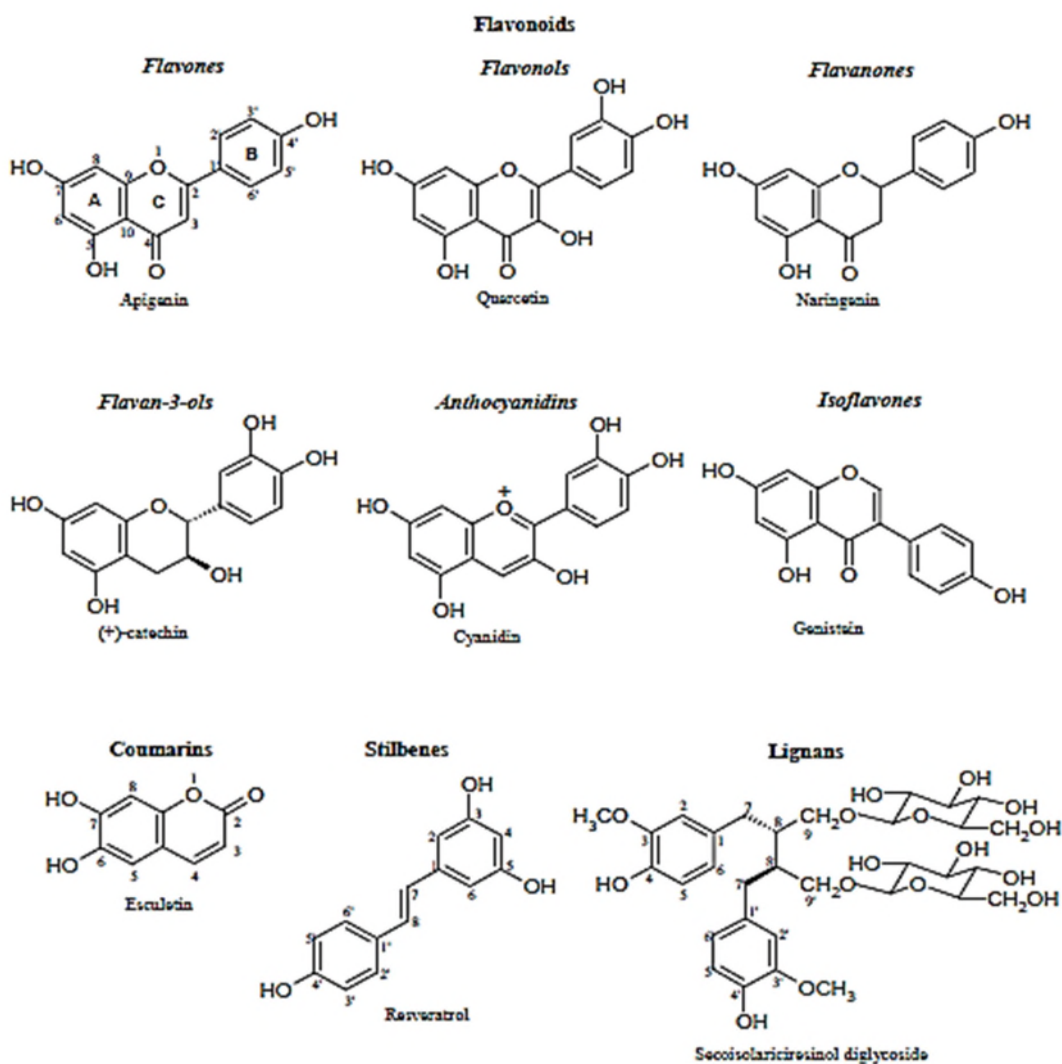


Figure 6 : Dérivés de flavonoïdes (Pereira *et al.*, 2009).

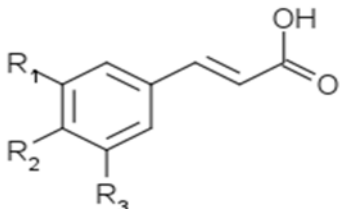
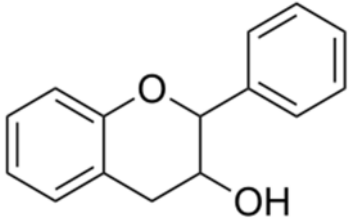
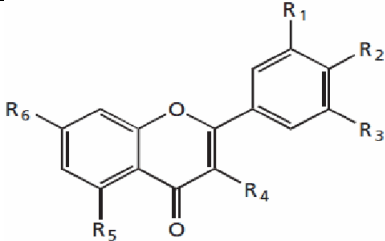
II.3. Composés phénoliques du laurier noble :

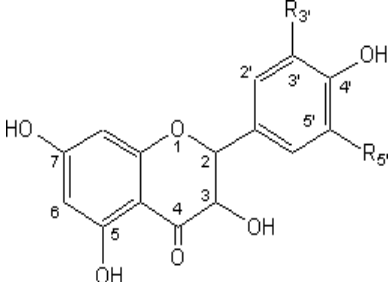
Des recherches antérieures sur le laurier noble ont permis d'isoler plusieurs classes de métabolites secondaires, telles que les mono et les sesquiterpènes, alcaloïdes, flavonoïdes glycosylé, et composés phénoliques (Julianti *et al.*, 2012).

Le profil HPLC des composées phénoliques d'un échantillon de laurier sauvage a révélé la présence de plusieurs composées, dont les flavane-3-ol, les flavonols et les flavones (Dias et al., 2014).

Une autre étude à détecter la présence de deux acides phénoliques, correspondant à l'acide coumarique et l'acide hydroxy-cinnamique. D'autres extraits ont montré la présence de l'acide caféique, férulique et vanillique. Ces différences dans la caractérisation des CP à partir des différents extraits de feuilles de laurier pourraient être dues aux conditions de croissance, et d'autres facteurs environnementaux (sol et climat) (Muñiz-Márquez et al., 2013).

Tableau II : Les principaux composés phénoliques identifiés après leurs isolement à partir des feuilles de laurier (Dias et al., 2014; Muñiz-Márquez et al., 2013).

| Composés phénoliques | Structures générales | dérivés |
|----------------------|---|--|
| Acides phénoliques |  | <ul style="list-style-type: none"> - Acide p-coumarique -Acide hydroxy cinnamique - Acide férulique |
| Flavane-3-ol |  | <ul style="list-style-type: none"> - Catéchine - Pro-anthocyanidine |
| flavonols |  | <ul style="list-style-type: none"> - Quercetin - Isorhamnetin - Kaempferol |

| | | |
|------------------------|--|------------------------------------|
| <p>flavones</p> |  | <p>- Apigénine - lutéoline</p> |
|------------------------|--|------------------------------------|

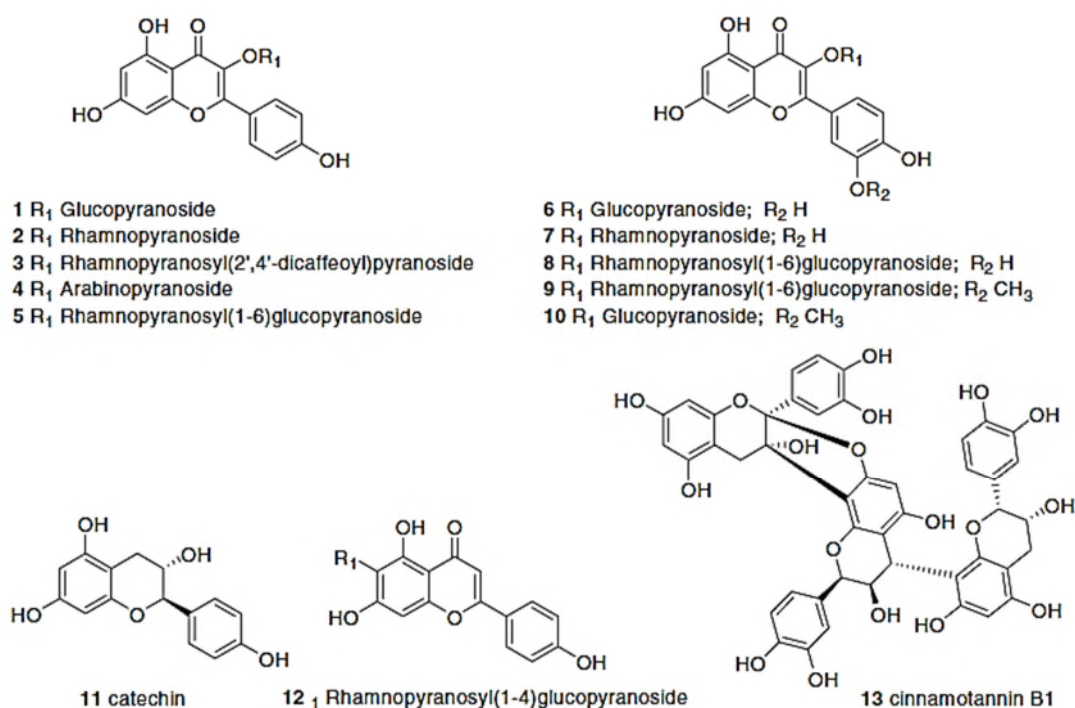


Figure 7 : Composées isolées de l'infusion de laurier noble (Dall'Acqua et al., 2009).

II.4. Rôle des composés phénoliques

II.4.1. Rôle dans la plante :

L'implication des composés phénolique dans la résistance des végétaux aux agents pathogènes recouvre trois aspects complémentaires :

a/ l'existence de barrières phénoliques constitutives, préexistant à l'infection et qui peuvent en limiter les effets ;

b/ la stimulation de la biosynthèse de phénols déjà présent dans la plante avant l'infection mais qui vont alors être accumulés en plus grande quantité ;

c/ la biosynthèse de phytoalexines, composés d'origines végétales à activités antibiotiques, qui n'existaient pas dans la plante avant l'infection et qui résultent donc de nouvelle expression de gènes du métabolisme secondaire suite à l'interaction entre les deux partenaires (**Macheix et al., 2005**).

II.4.2. Rôle dans la physiologie humaine :

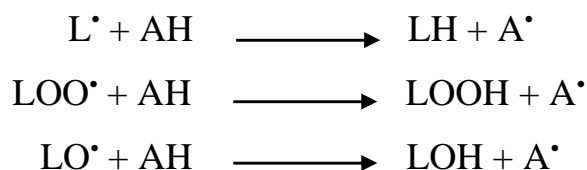
Il a été démontré que les polyphénols protègent contre les maladies coronariennes et les maladies dégénératives, ils peuvent réduire l'absorption de cholestérol (réguler positivement les effets hépatiques), exercent également des effets anti-inflammatoire, réduisant ainsi la production de cytokines impliqués dans l'adhésion cellulaires et il permet aussi la protection contre le stress oxydatif (**Han et al., 2007; Zern and Fernandez, 2005**).

Ils sont présents dans les fruits, légumes, vin, thé, huile d'olive extra-vierge et autre produits à base de cacao. La plupart des activités biologiques, sont attribuées à leurs capacités antioxydantes intrinsèques, dont capacité à chélater les métaux ioniques impliqués dans la production des radicaux libres (**Han et al., 2007; Pereira et al., 2009**).

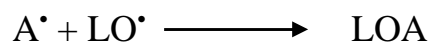
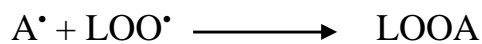
II.5. Mécanisme d'action des composés phénoliques :

Les composés phénoliques peuvent participer au piégeage des radicaux libres des réactions en tant que donneurs d'électrons de groupes hydroxyles et former des radicaux stables, ils délocalisent un électron non apparié en réagissent avec d'autre antioxydants ou en liant des métaux (**Sokół-Lętowska et al., 2007**).

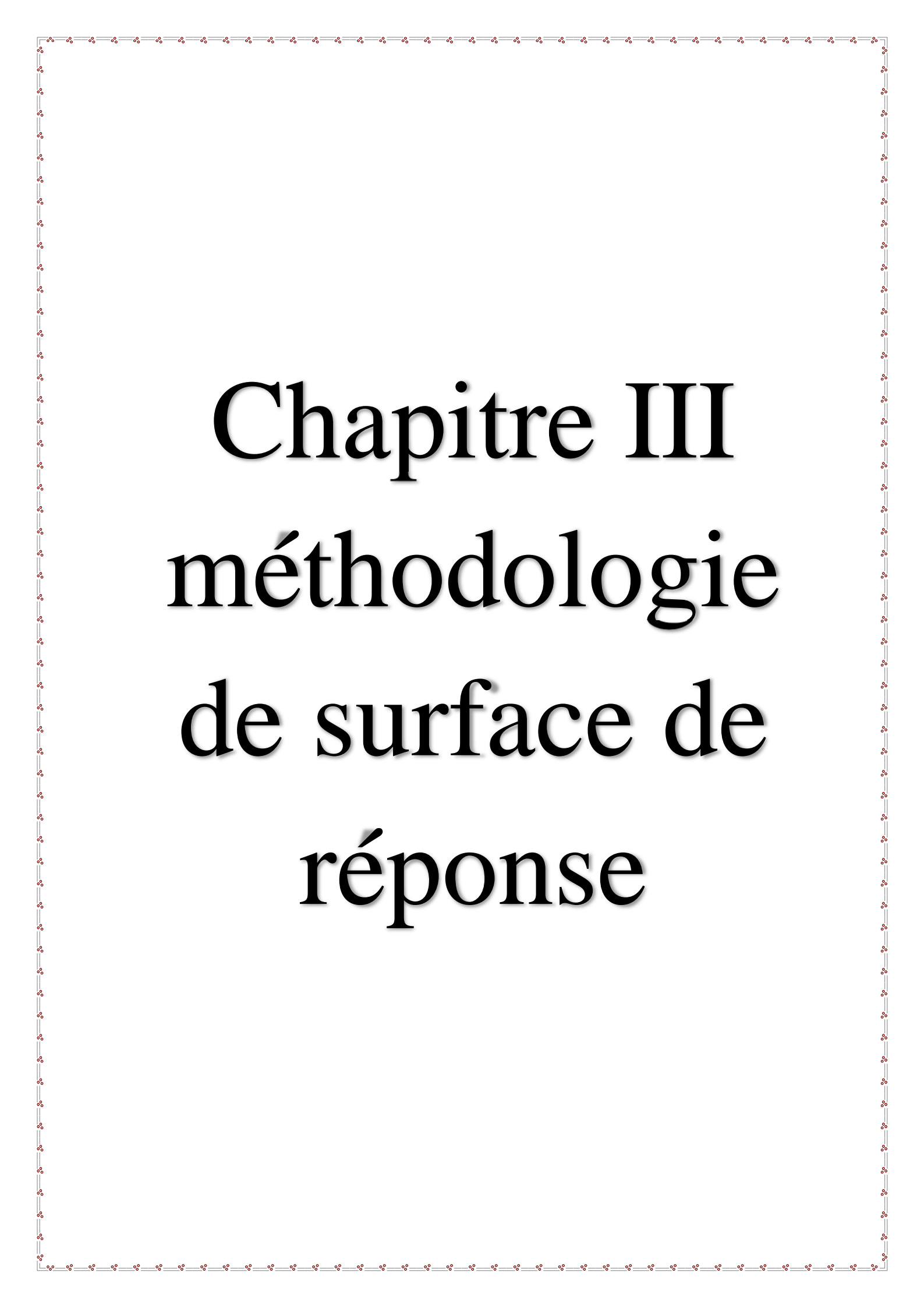
Les antioxydants primaires inhibent ou retardent l'étape d'initiation de la chaîne de peroxydation lipidique par leur réaction avec les radicaux lipidiques (L•) ou par inhibition de l'étape de propagation par leur réaction avec les radicaux peroxydes (LOO•) ou alkoxyde (LO•).



L'antioxydant se transforme en un radical libre plus stable que le radical lipidique. Le radical antioxydant peut interférer avec les réactions de la chaîne de propagation par la formation de composés antioxydants peroxy (**Antolovich et al., 2002**).



L'antioxydant peut être aussi régénéré par l'action d'un antioxydant plus puissant ; ainsi l'efficacité d'un antioxydant augmente avec la diminution de la force de liaison A-H. Il existe une échelle dans l'activité des antioxydants, mais elle est variable suivant les conditions du milieu (la concentration de l'antioxydant, la température, la présence d'agents synergiques ou antagonistes) (**Antolovich et al., 2002; Gordon, 1990**).



Chapitre III

méthodologie

de surface de

réponse

III.1. Optimisation :

Il est important d'améliorer les performances des systèmes et d'augmenter le rendement des processus, la méthode utilisée à cette fin est appelée optimisation. Les inconvénients majeurs de cette technique est qu'elle n'inclut pas les effets interactifs parmi les variables, et éventuellement elle ne décrit pas les effets complémentaires des paramètres sur le processus. Afin de surmonter ce problème, l'outil d'optimisation le plus efficace et qui prend moins de temps est la méthodologie de surface de réponse (MSR), qui à l'origine a été décrite par Box et Wilson en 1951 (**Baş and Boyacı, 2007; Wang et al., 2007**).

La MSR est une méthode statistique utile pour l'optimisation de réactions chimiques et/ou procédés industriels largement utilisés pour les plans d'expériences, et pour optimiser les processus pertinents et longs (**Arslan-Alaton et al., 2009**).

L'utilisation de l'MSR en tant que technologie d'optimisation comporte plusieurs étapes et parmi elles : la délimitation de la région expérimentale, le choix du schéma expérimental, traitement mathématique-statistique du schéma obtenu et la vérification de l'équation, et l'obtention des valeurs optimales pour l'étude (**Bezerra et al., 2008**).

III.2. Définition du plan d'expérience :

Les plans d'expériences devraient faire partie du bagage scientifique de tout expérimentateur. En effet, ils servent à optimiser l'organisation des essais, qui permet d'obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences, et la meilleure précision sur la modélisation des résultats (**Goupy, 1999**).

La méthodologie de surface de réponse est une collection de méthodes statistiques et mathématiques, qui sont utiles pour la modélisation et l'analyse des problèmes de l'ingénierie, à cet effet beaucoup de plans d'expériences sont utilisés tels que le plan Box-Behnken, Doehert, et le plan composite centré (CCD). Ce dernier peut être utilisé pour déterminer les conditions optimales de l'extraction des polyphénols, il contient des facteurs factoriels intégrés ou fractionnaires, c'est un dessin à deux niveaux factoriels (-1 ; +1), avec des points centraux (codé 0), qui sont augmentés avec un groupe de points axiaux (en étoile $+a$; $-a$) qui permettent d'estimer la courbure, dont le « a » est la distance des points axiaux par rapport au centre. Un CCD contient toujours deux fois plus de points étoiles, qui

représentent de nouvelles valeurs extrêmes (basses et hautes) pour chaque facteur (**Bezerra et al., 2008; Deve et al., 2014; Hanrahan and Lu, 2006; Yahiaoui et al., 2010**).

III.3. Notions fondamentales :

III.3.1. Notion de l'espace expérimental :

Les grandeurs qui intéressent l'expérimentateur et qui sont mesurées à chaque expérience sont appelées réponses. Les variables que l'on désire étudier sont appelées facteurs, ce dernier varie entre deux bornes : le niveau bas (-1) et le niveau haut (+1). L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre ces deux niveaux s'appelle le domaine de variation du facteur (**figure 8**).

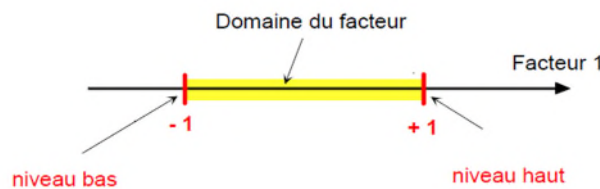


Figure 8 : Domaine de variation du facteur

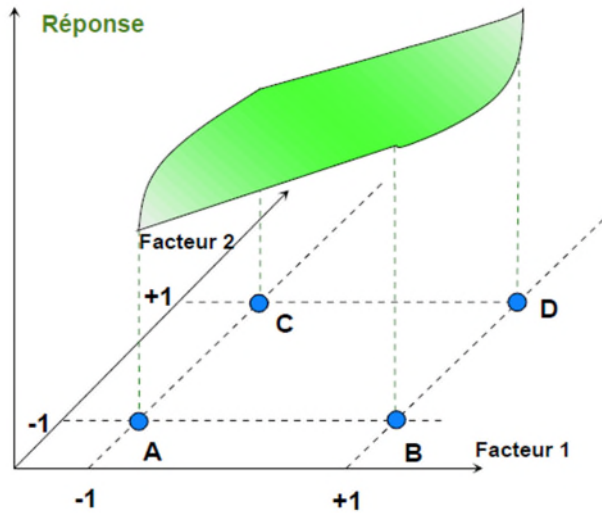
On représente un facteur par un axe orienté. S'il y'a deux facteurs, le second est représenté lui aussi par un axe gradué et orienté, et il est disposé orthogonalement au premier, on définit le niveau bas, le niveau haut et le domaine de variation pour les deux facteurs. Cet espace est appelé l'espace expérimental (**Goupy, 1999**).

III.3.2. Notion de surface de réponse :

Le niveau X_1 du facteur 1 et le niveau X_2 du facteur 2 peuvent être considérés comme les coordonnées d'un point de l'espace expérimentale, un plan d'expérience est représenté par un ensemble de points expérimentaux. Le regroupement des domaines des facteurs définit le « domaine d'étude ». Ce domaine est la zone de l'espace expérimental choisis par l'expérimentateur pour faire ses essais.

Les niveaux X_i représente les coordonnées d'un point expérimental, et Y est la valeur de la réponse en ce point. A l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond à un ensemble de réponses qui se localisent sur une surface appelée surface de réponse.

Un plan à deux facteurs utilise un espace à trois dimensions pour être représenté : une dimension pour la réponse, deux dimensions pour les facteurs. On cherche à obtenir la meilleure précision possible sur la surface de réponse tout en limitant le nombre d'expériences (**figure 9**) (Groupy, 2006).



- [-1, +1] représente le domaine du facteur ;
- Les points A, B, C, et D représentent les points expérimentaux ;
- L'espace limité par la forme ABCD représente le domaine d'étude ;
- La surface verte représente la surface de réponse.

Figure 9 : Points du domaine d'étude et leurs surface de Réponse.

III.3.3. Notion de modélisation mathématique :

La modélisation mathématique définit une fonction mathématique qui relie la réponse aux facteurs, on prend un développement limité de la série de Taylor-Mac Laurin. Les dérivées sont supposées constantes et le développement prend la forme d'un polynôme de degré plus ou moins élevé :

$$Y = a_0 + \sum a_i X_i + \sum a_{ij} X_i X_j + \dots + \sum a_{ii} X_i^2 + \sum a_{ij\dots z} X_i X_j \dots X_z$$

-Y : représente la surface ou la grandeur d'intérêt ;

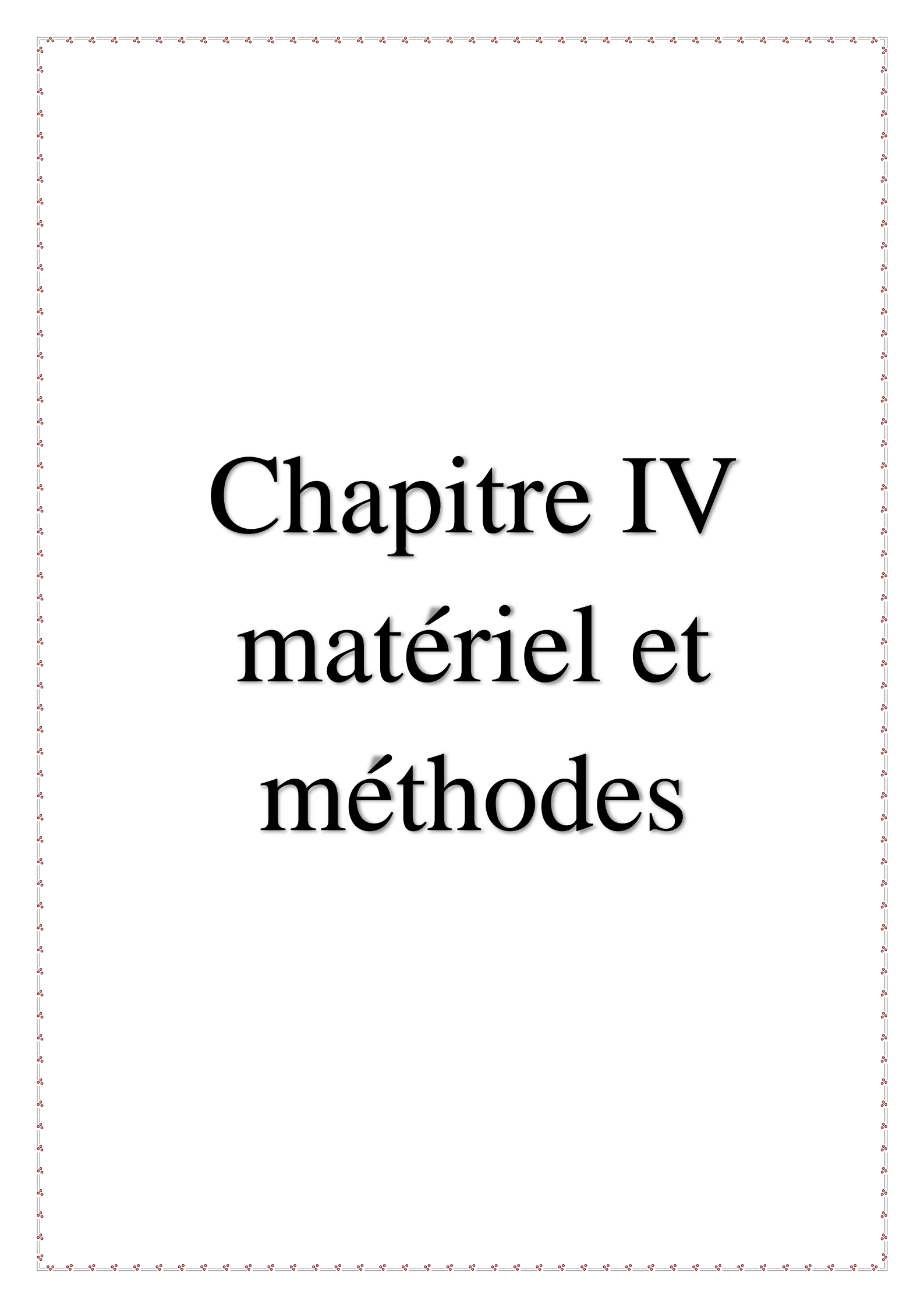
-X_i : représente le niveau attribué au facteur i ;

- a₀, a_i, a_{ij}, a_{ii} : sont les coefficients du modèle mathématique adopté a priori.

L'intérêt de modéliser la réponse par un polynôme est de pouvoir calculer ensuite toutes les réponses du domaine d'étude sans être obligé de faire les expériences. Ce modèle

est appelé « modèle postulé » ou « modèle a priori », ce modèle comporte deux écarts, le premier est le manque d'ajustement ; (lack of fit en anglais) qui est l'écart entre le modèle a priori et le modèle réel qui régit le phénomène étudié. Le second est la prise en compte de la nature aléatoire de la réponse, si les résultats sont dispersés, les dispersions ainsi constaté sont appelés erreurs expérimentales. Ces deux écarts sont souvent réunis dans un seul écart noté « e », le modèle utilisé s'écrit alors :

$$Y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \dots + \sum a_{ii} x_i^2 + \sum a_{ij\dots z} x_i x_j \dots x_z + e \quad (\text{Goupy, 2006}).$$



Chapitre IV

matériel et méthodes

IV.1. Problématique et objectifs :

Dans le but d'une étude d'optimisation d'extraction de composés phénoliques à partir de feuilles de laurier noble par le moyen de plan d'expérience une série d'objectifs suivants ont été soulevés :

- Optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre de feuilles de laurier en utilisant la méthodologie de surface de réponse (MSR) ;
- Réaliser une étude préliminaire pour la sélection des niveaux des variables d'extraction, qui seront adoptés dans le plan d'expérience ;
- Valider le model obtenu par l'optimisation en comparant les valeurs prédites aux valeurs expérimentales ;
- Déterminer l'activité antioxydante de l'extrait optimisé.

IV.1.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué de feuille de laurier noble appelé localement « rend » (**Figure 10**). Récolté dans la région montagneuse d'Aokas, wilaya de Bejaïa en mois de février 2019. Les feuilles ont été séchées à l'étuve à 40 C° pendant 3 jours, après séchage et broyage à l'aide d'un broyeur électrique la poudre obtenue a été tamisé en utilisant un tamis de granulométrie 250 µm, La poudre récupérée est ensuite conservée dans des récipients en plastique ou en verre en vue de procéder aux différents tests.



Figure 10 : Feuilles de laurier fraîches
(Photographie)



Figure 11 : Feuilles de laurier sèches
(Photographie)

IV.2. Humidité :

Pour déterminer la teneur en eau d'échantillon à analyser (feuilles de laurier), une quantité d'1g de feuilles (P) a été introduite dans un creuset. Après quatre heures de séchage dans une étuve à une température de 105C°, le poids de l'échantillon a été déterminé (P₁). Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient de transporter les creusets dans un dessiccateur.

La teneur en eau (%) du matériel végétal est donnée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = [(P-P_1)/P]*100$$

P : Poids en g de la prise d'essai avant séchage ;

P₁ : Poids en g de la prise d'essai après séchage.

Le taux d'humidité pour le laurier noble est de 60 %.

IV.3. Extraction des composés phénoliques :

Dans une démarche d'optimisation des conditions d'extraction de CPT à partir de la poudre de feuilles de laurier noble, une série de paramètres ont été étudiés. Notamment l'effet de la concentration du solvant, l'effet de la température, l'effet du temps, l'effet du ratio et du nombre d'extractions.

L'extraction par macération dans un bain-marie a été mise en œuvre pour l'obtention des extraits de chaque paramètre optimisés. Les extraits obtenus ont été filtrés et conservés au réfrigérateur à 5C°. La teneur en composés phénoliques a été déterminée pour chaque variable étudiée afin d'identifier l'optimum (le point du paramètre qui donne le rendement le plus élevé), dans le but de le fixer dans l'étude de l'effet du prochain paramètre.

IV.3.1. Dosage des polyphénols totaux :

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un mélange d'acide phospho-tungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phospho-molybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), et sont réduits en oxyde de tungstène (W₈O₂₃) et molybdène (Mo₈O₂₃), au cours de l'oxydation des phénols. La coloration bleue reflète la quantité de phénol dans l'échantillon et la mesure est faite à 760 nm (**Conforti et al., 2006**).

La teneur en composés phénoliques des extraits a été déterminée par la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu rapportée par **Haddadi-Guemghar et al. (2014)** avec quelques modifications. Un volume de 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 20 fois a été mélangé

avec 100 µl d'extrait, après 5 min, le mélange a été additionné de 1 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 (6%), les tubes ont été gardés 60 mn à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 760 nm et les résultats ont été exprimés en gramme équivalent d'acide gallique par kilogramme de poudre sèche (g EAG/kg de PS).

IV.3.2. Dosage des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode rapportée par **Zhishen et al. (1999)** avec quelques modifications. Dans un tube à essai un volume de 1ml d'extrait de laurier a été additionné de 1,25 ml d'eau distillé et de 0,75 ml de nitrite de sodium (NaNO_2 5%), après 5 min, un volume de 0,15ml de chlorure d'Aluminium (AlCl_3 10%) a été ajouté. Le tout est mélangé et un volume de 0,5ml d'hydroxyde de sodium (NaOH 1M) plus 0,275 ml d'eau distillé ont été ajoutés après 6 min.

L'absorbance est mesurée après 15 min à 510 nm. Et les résultats ont été exprimés en gramme équivalent catéchine par kilogramme de matières sèches (g EC/kg de PS).

IV.4. Détermination de l'activité antioxydante :

IV.4.1. Pouvoir réducteur :

Le pouvoir réducteur des extraits de laurier a été déterminé par la méthode rapportée par **Amarowicz et al. (2004)**. Un volume de 0.5ml d'extrait a été additionné d'un volume de 1,25ml de tampon phosphate (0,2M, pH : 6,6) et d'un volume de 1,25ml de ferricyanure de potassium [$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$](1%). Après incubation à 40°C pendant 20 minutes, un volume de 1,25ml d'acide trichloracétique (TCA10%) a été ajouté. Un volume de 1ml du mélange a été additionné de 1ml d'eau distillée et de 0,2ml du chlorure ferreux FeCl_2 (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700nm.

IV.4.2. Activité anti-radicalaire DPPH :

Le DPPH (2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical stable violet, qui devient jaunâtre après réaction avec les composés antioxydants. Le degré de décoloration indique le potentiel de l'extrait antioxydant. Le radical libre DPPH a une absorption maximale à 515nm (**Santoyo et al., 2006; Speroni et al., 2011**).

Le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait de feuilles de laurier noble a été mesuré par la méthode rapportée par **Ślusarczyk et al. (2009)** avec quelques modifications. Un volume de

500 µl d'extrait a été additionné de 2ml de la solution ethanolique de DPPH (0,06mg/ml), après 30min d'incubation, l'absorbance est lue à 515nm. L'activité « scavenger » sur le radical DPPH a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, elle est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Activité « scavenger » sur le radical DPPH(\%)} = 100 - [(DO_1 * 100) / DO_0]$$

DO₀ : Absorbance du contrôle

DO₁ : Absorbance d'échantillon

IV.5. Etude statistique :

Dans la présente étude, l'analyse de la variance (ANOVA) a été suivie par le logiciel STATISTICA (version 5.5, édition 97), en utilisant le test HSD à $p \leq 0.05$.

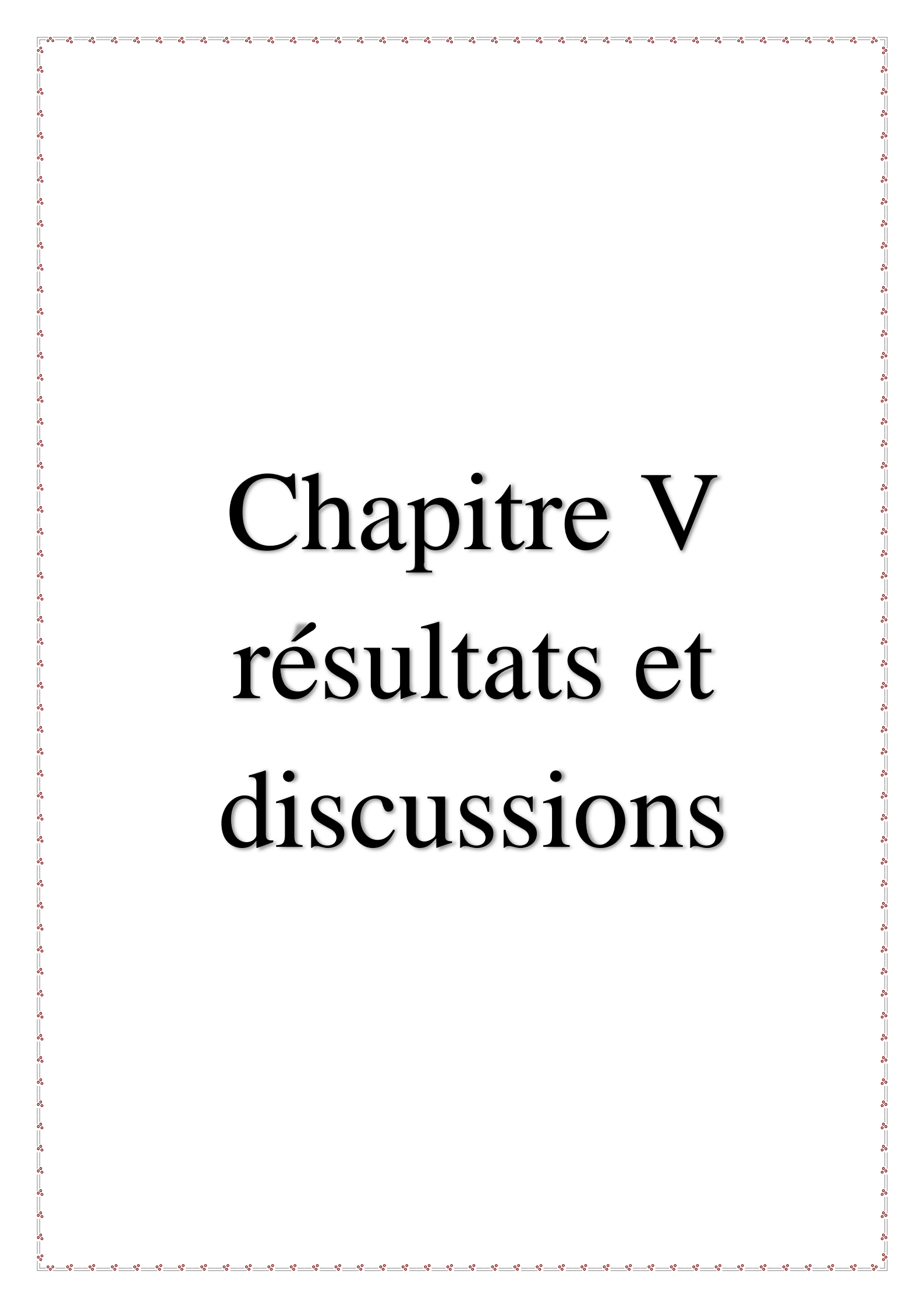
L'optimisation des conditions d'extraction des CPT a été déterminé par la méthode de surface de réponse (MSR) a l'aide du logiciel design expert software (version 8.0.7.1 trial stat-Ease, Inc.Minneapolis, MN). L'analyse est basée sur un plan composite centré CCD qui comprend trois variables et trois niveaux factoriels, pour un total de 20 essais. L'effet de trois variables indépendantes : la concentration de solvant, la durée et la température d'extraction sur la teneur en CPT de l'extrait a été le but de l'étude (**tableau III**). Le CCD utilise la méthode de la régression des moindres carrés pour ajuster les données à un modèle quadratique. Le modèle quadratique pour chaque réponse a été comme suit :

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^K \beta_i X_i + \sum_{i=1}^K \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^K \sum_{j=2}^K \beta_{ij} X_i X_j$$

Où ; **Y** est la réponse prédite, **β₀** : une constante, **β_i** : le coefficient linéaire, **β_{ii}** : le coefficient quadratique, **β_{ij}** : l'interaction des coefficients des variables (i et j), **X_i** et **X_j** variables indépendantes influençant les réponses Y.

Tableau III : Variable indépendantes codées et réelles utilisées pour l'optimisation

| Variables indépendantes | unités | symboles | Niveaux codés | | |
|-------------------------|---------|----------|---------------|----|----|
| | | | -1 | 0 | +1 |
| Temps | heure | A | 1 | 2 | 3 |
| Température | C° | B | 20 | 40 | 60 |
| Concentration éthanol | % (v/v) | C | 0 | 40 | 80 |



Chapitre V

résultats et discussions

V.1. Etude préliminaire :

V.1.1. Sélection des niveaux appropriés pour les variables d'extraction des CPT :

L'étude qualitative et quantitative de la composition à partir de matière végétale reposent principalement sur le choix de la méthode d'extraction, l'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, l'extraction dépend de nombreux facteurs tels que la composition du solvant, température d'extraction, ratio solide/solvant et pression d'extraction (Azmir *et al.*, 2013; Liyana-Pathirana and Shahidi, 2005; Mahmoudi *et al.*, 2013).

Pour déterminer les trois niveaux (niveaux bas, moyen, et haut) qui seront adoptés dans le plan d'expérience, une étude préliminaire sur cinq facteurs (temps d'extraction, concentration de solvant, température d'extraction, le ratio, et le nombre d'extraction) a été réalisée (tableau V).

Tableau V : Paramètres étudiés dans la phase préliminaire.

| paramètres | Temps Min | Température C° | Concentration éthanol % | Ratio g/ml | Nombre d'extractions |
|----------------|--------------|-------------------|-------------------------------|---------------|-------------------------|
| valeurs | 10 | 18 | 0 | 1/20 | 1 |
| | 30 | 20 | 20 | 1/30 | 2 |
| | 60 | 45 | 40 | 1/40 | 3 |
| | 120 | 60 | 60 | 1/50 | 4 |
| | 180 | | 80 | 1/60 | |
| | 360 | | 100 | | |

V.1.1.1. Temps d'extraction :

Le temps d'extraction est un paramètre important à optimiser afin de réduire la dépense d'énergie (Spigno *et al.*, 2007).

Pour déterminer le temps optimale d'extraction des CPT de la poudre de laurier, des extractions à différents temps (10min, 30min, 1h, 2h, 3h ,6h) avec la fixation de la

température à 40 C°, concentration de l'éthanol à 40 %, le ratio à 1g/30ml d'éthanol ont été effectuées.

D'après l'analyse statistique, les résultats obtenus ont démontré qu'il n'existe pas une différence significative entre 2h, 3h et 6h et le temps choisis pour le reste des paramètres est de 2h.

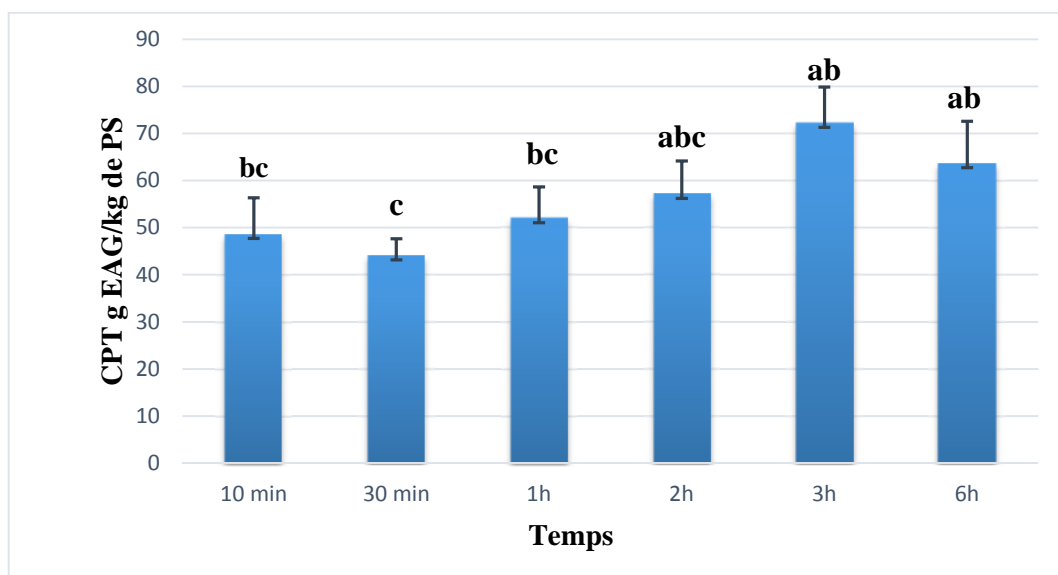


Figure 12 : Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus avec les différents temps. La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais =3).

V.1.1.2.Solvant d'extraction :

Les solvants alcooliques ont été communément utilisés pour extraire les composés phénoliques de substances naturelles, avec un rendement assez élevé en extrait total, particulièrement le mélange du solvant avec l'eau montre une efficacité plus importante de l'extraction. L'utilisation de l'éthanol peut être préférable au méthanol, en vue de l'application alimentaire des extraits (Spigno et al., 2007).

En vue de choix de la concentration du solvant (éthanol), les paramètres temps (2h), température (40C°), ratio (1g/30ml) ont été fixé (avec la variation de la concentration d'éthanol (0%, 20%, 40%, 80%, 100%).

L'analyse de la variance des teneurs en CPT obtenue après extraction à différentes concentrations a permis de choisir l'éthanol 60% comme solvant d'extraction pour les analyses restantes et l'intervalle 0-80% pour le plan d'expérience.

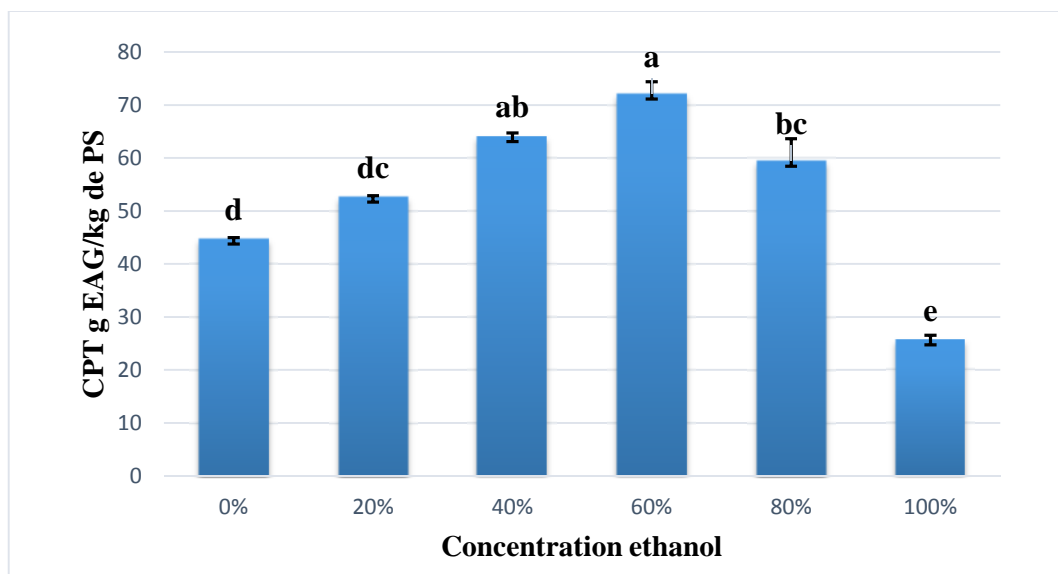


Figure 13 : Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus avec les différentes concentrations en éthanol. La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais =3).

V.1.1.3. Température d'extraction :

L'impact de la température sur l'extraction a été étudié à 18°C, 20°C, 45°C, 60°C avec la fixation de la concentration du solvant à 60°C, le temps à 2h et le ratio à 1g/30ml du solvant.

L'analyse statistique a montré qu'il n'existe pas une différence significative entre les teneurs en CPT obtenue à 18°C et 20°C, le maximum a été atteint à 45°C (température choisie pour le reste des analyses) et une légère diminution à 60°C a été observée qui peut être due à la dénaturation des composés phénoliques totaux sous l'effet de la chaleur.

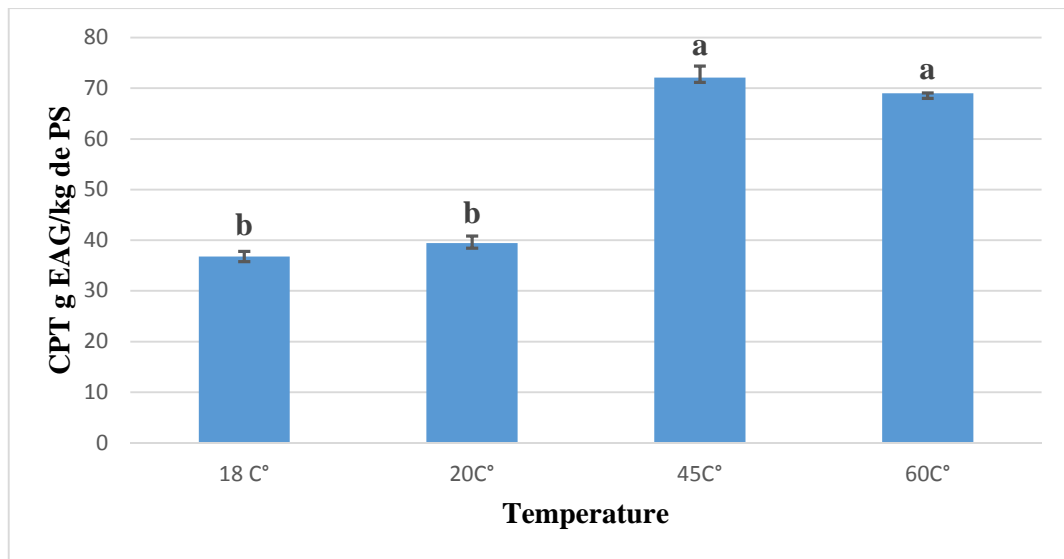


Figure 14 : Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus à différentes températures. La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais = 3).

V.1.1.4. Le Ratio :

En se basant sur les conditions d'extraction optimale précédente (2h, 45°C, 60%) une extraction à différents ratios ont été exécutées à savoir 1g de poudre de laurier / 20ml, 1g/40ml, 1g/30ml, 1g/50ml, 1g/60ml d'éthanol.

L'analyse statistique des résultats a montré qu'il n'existe pas une différence significative obtenue entre les teneurs en CPT à des extraits avec 1g/20ml, 1g/30ml, et 1g/40ml, l'optimum est atteint avec les deux derniers ratios (1g/50ml, et 1g/60ml) avec une différence non significative. Le ratio choisi pour les paramètres restants est 1g/50ml.

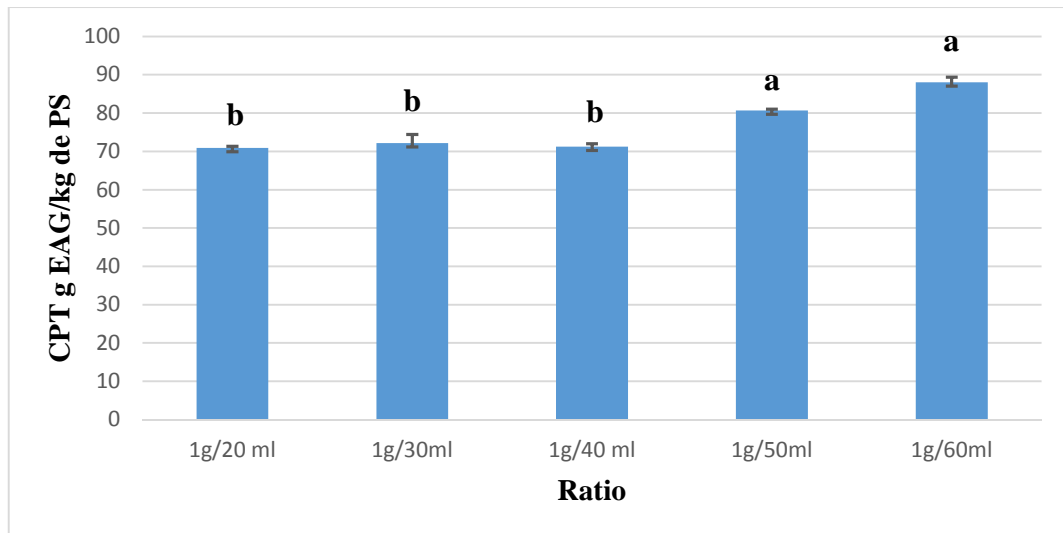


Figure 15 : Teneurs en composées phénoliques des extraits obtenus à différents ratio.

La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$).

Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais = 3).

V.1.1.5. Nombre d'extraction :

Afin de réaliser un épuisement en terme de concentration en CPT de la poudre de laurier plusieurs extraction ont été réalisé à savoir une, deux, trois, et quatre fois avec la fixation du temps d'extraction à 2h, la température à 40C°, et le ratio à 1g/50ml. L'analyse statistique a montré qu'il n'existe pas une différence significative entre une et deux extractions, le rendement est au maximum à trois répétitions, et il n'existe pas une différence significative ($p < 0,05$) avec quatre répétitions.

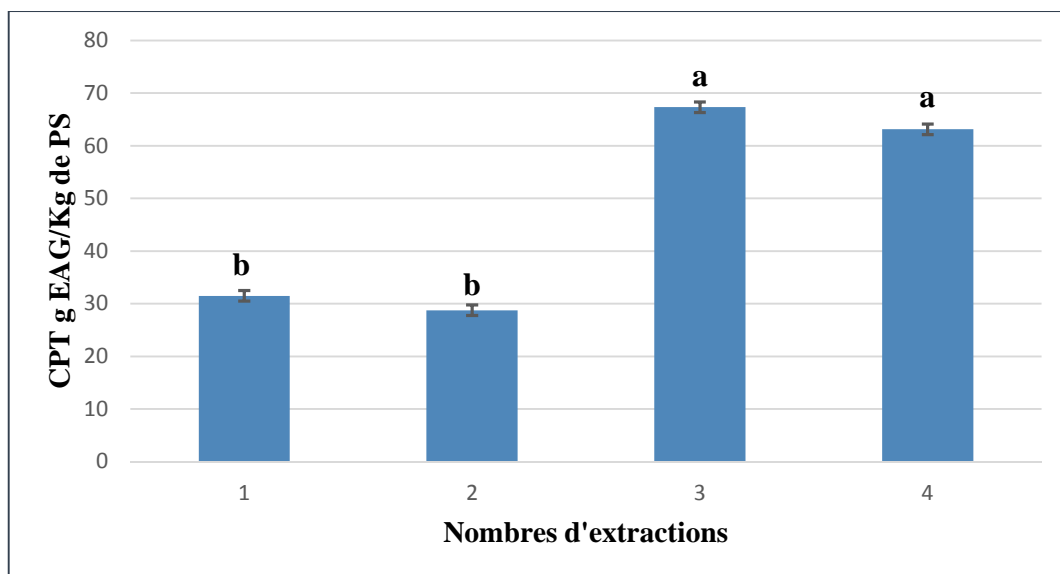


Figure 16 : Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus après plusieurs extractions. La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais =3).

V.2. Etude d'optimisation :

V.2.1. Plan d'expérience :

Les données expérimentales obtenues à partir des 20 essais illustrées dans le **tableau V**, ont été analysé par le moyen d'un plan CCD, les résultats ont montré que la teneur en CPT variait entre 25,44 et 83,18 g EAG/kg de PS.

Tableau V : Plan d'essai des trois facteurs utilisés par MSR

| Essais | Facteur 1 A : Temps h | Facteur 2 B : Température C° | Facteur 3 C : Concentration éthanol % | Réponse 1 CPT g EAG/kg de MS |
|--------|-----------------------------|------------------------------------|--|---------------------------------------|
| 1 | 1 | 60 | 0 | 62,60 |
| 2 | 3 | 20 | 0 | 39,29 |
| 3 | 3 | 60 | 0 | 51,48 |
| 4 | 1 | 20 | 0 | 41,30 |

| | | | | |
|----|---|----|----|-------|
| 5 | 2 | 20 | 40 | 25,44 |
| 6 | 2 | 40 | 0 | 40,72 |
| 7 | 2 | 40 | 40 | 36,50 |
| 8 | 1 | 60 | 80 | 83,78 |
| 9 | 1 | 40 | 40 | 34,78 |
| 10 | 2 | 40 | 80 | 65,47 |
| 11 | 2 | 40 | 40 | 32,14 |
| 12 | 3 | 40 | 40 | 33.12 |
| 13 | 2 | 40 | 40 | 31,45 |
| 14 | 1 | 20 | 80 | 36,71 |
| 15 | 2 | 60 | 40 | 54,59 |
| 16 | 3 | 60 | 80 | 61,21 |
| 17 | 2 | 40 | 40 | 36,22 |
| 18 | 2 | 40 | 40 | 37,62 |
| 19 | 2 | 40 | 40 | 40,76 |
| 20 | 3 | 20 | 80 | 42,00 |

V.2.2. Analyse de la variance :

L'analyse de la variance (ANOVA) (**tableau VI**), a démontré que le modèle quadratique utilisé pour l'extraction par macération des composés phénoliques du laurier le représente convenablement ($P < 0.0001$). Les résultats obtenus confirment que la concentration en éthanol et la température agissent sur l'extraction des composés phénoliques.

Tableau VI : ANOVA pour l'effet des trois variables sur la teneur en CPT

| Source | Somme Des carrés | df | centre Des carrés | valeurs De F | Valeurs de P | |
|--------------------------------|------------------|----------|-------------------|--------------|--------------------|------------|
| | | | | | Prob > F | |
| Modèle | 3709.44 | 9 | 412.16 | 16.29 | < 0.0001 | signifiant |
| <i>A-Temps</i> | <i>102.80</i> | <i>1</i> | <i>102.80</i> | <i>4.06</i> | <i>0.0715</i> | |
| <i>B-Température</i> | <i>1662.24</i> | <i>1</i> | <i>1662.24</i> | <i>65.71</i> | <i>< 0.0001</i> | |
| <i>C-Concentration éthanol</i> | <i>289.18</i> | <i>1</i> | <i>289.18</i> | <i>11.43</i> | <i>0.0070</i> | |
| <i>AB</i> | <i>170.73</i> | <i>1</i> | <i>170.73</i> | <i>6.75</i> | <i>0.0266</i> | |

| | | | | | |
|----------------|--------|---|--------|-------|--------|
| AC | 2.14 | 1 | 2.14 | 0.085 | 0.7769 |
| BC | 134.46 | 1 | 134.46 | 5.32 | 0.0438 |
| A ² | 24.66 | 1 | 24.66 | 0.97 | 0.3467 |
| B ² | 25.95 | 1 | 25.95 | 1.03 | 0.3350 |
| C ² | 716.96 | 1 | 716.96 | 28.34 | 0.0003 |

Des valeurs de "Prob> F" inférieures à 0,0500 indiquent que les termes du modèle sont significatifs. Dans ce cas, B, C, AB, BC, C² sont des termes modèles significatifs. L'analyse de la régression a été réalisée pour adapter les données expérimentales à un modèle mathématique.

- L'étude d'optimisation réalisée a donné l'équation polynomiale finale en termes de facteurs codés et en éliminant les termes non significatifs :

$$\text{CPT} = +12.89* B + 5.38* C - 4.62* AB + 4.10* BC + 16.15* C^2$$

V.2.2.1. Ajustement du modèle :

- Erreur d'ajustement :

Le manque d'ajustement (Lack of fit), traduit le fait que le modèle a priori est fort probablement différent du modèle réel, qui régit le phénomène étudié (Groupy, 2006).

Il définit des points du domaine expérimental qui ne sont pas inclus dans la régression. La valeur F et la Valeur P du manque d'ajustement sont 3.15 et 0.1166 respectivement, ce qui implique qu'elles ne sont pas significatives par rapport à l'erreur pure, ainsi que l'équation du modèle était adéquate pour prédire le rendement d'extraction des CPT sous n'importe quelle combinaison de variable.

- Coefficient de détermination R²

La capacité prédictive globale du modèle est généralement expliquée par le R² (Baş and Boyacı, 2007).

Le R² représente la corrélation entre les valeurs réelles et prédites. D'autre part, le R² ajusté indique le même effet mais avec l'élimination des variables qui n'affectent pas

l'extraction. Dans la présente étude le R^2 a été évalué à 0.936 (**figure 17**), ce qui explique que 93.6% des variations pourraient être impliqué par le modèle ajusté pour prédire les réponses et R^2 ajusté et de 0.8787 qui confirme la haute significativité du modèle.

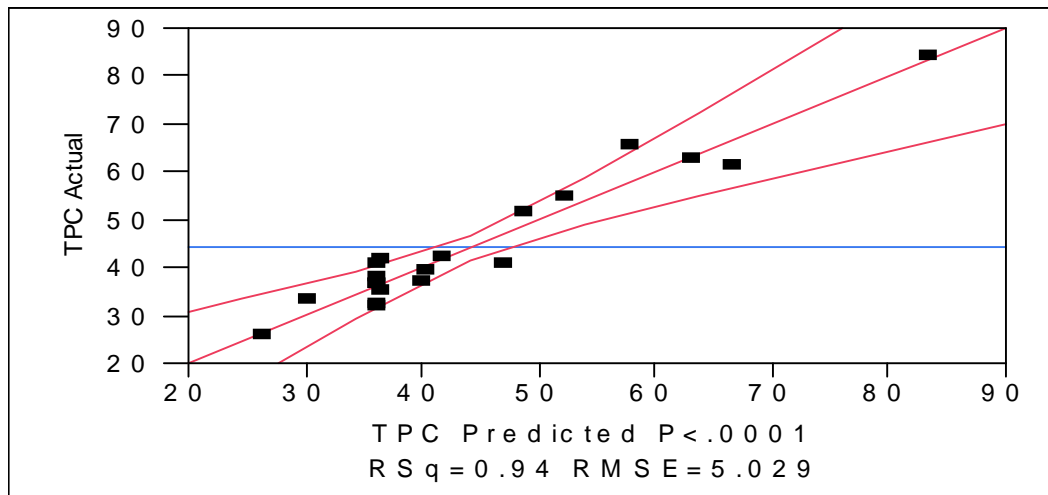


Figure 17 : Plan de prédiction réelle

Tableau VII : Paramètres de l'ajustement du modèle

| | | Somme des carrés | df | Moyenne des carrés | Valeurs de F | Valeur de P Prob > F | |
|--------------|--------|------------------|----|--------------------|--------------|----------------------|----------------|
| résidus | | 252.96 | 10 | 25.30 | | | |
| Lack of fit | | 192.06 | 5 | 38.41 | 3.15 | 0.1166 | not signifiant |
| Erreur pure | | 60.90 | 5 | 12.18 | | | |
| R^2 | 0.9362 | | | | | | |
| R^2 ajusté | 0.8787 | | | | | | |

V.2.2.2.Optimisation des conditions d'extraction :

La méthodologie de surface de réponse consiste en un groupe de techniques mathématiques et statistique, qui peuvent être utilisé pour définir la relation entre les réponses et les variables indépendantes, défini l'effet de ce dernier seul ou en combinaison sur les processus. Cette méthodologie génère un modèle mathématique. Et la perspective graphique de ce dernier a conduit au terme surface de réponse (**Baş and Boyacı, 2007**).

La **figure 18** définit la surface de réponse pour l'effet de temps et la température sur la teneur en CPT du laurier. Le taux d'extraction des CPT augmente avec l'augmentation de la température et le maximum est atteint à 60°C, et le temps d'exposition lors d'extraction n'agit pas significativement sur la teneur en CPT car on remarque que cette dernière ne varie que très peu entre 1h et 3h.

Les travaux de **Dent et al. (2013)** sur l'effet des conditions d'extractions sur la teneur en polyphénols de la sauge sauvage prouvent que le temps d'exposition n'influence pas significativement sur le taux de composés phénoliques.

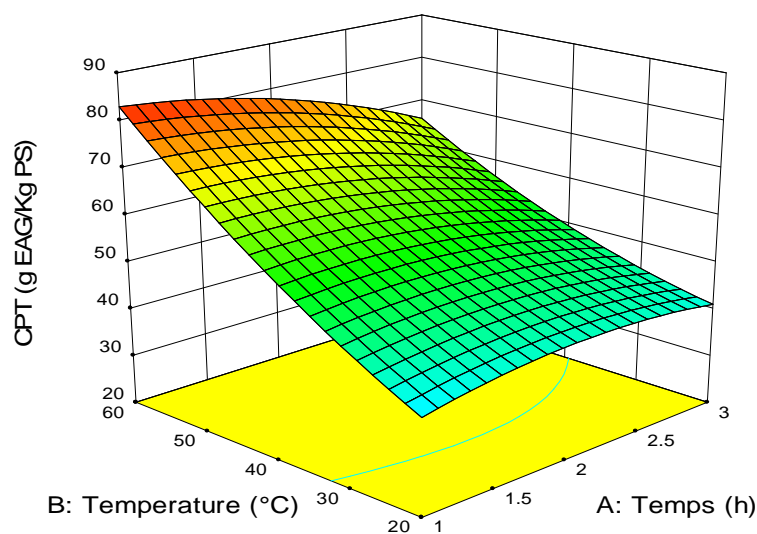


Figure 18 : Surface de réponse pour l'effet du temps et de la température d'extraction sur les CPT du laurier.

La surface de réponse illustrée dans la **figure 19** a montré l'effet de la concentration d'éthanol et le temps d'extraction sur la teneur en CPT. Le taux de CPT accroît avec l'accroissement de la proportion du solvant et il atteint le maximum à 80%. Nos résultats ont été en accord avec les résultats obtenus par **Liyana-Pathirana and Shahidi (2005)** sur le blé ou la teneur en CPT augmente avec l'augmentation de la concentration en éthanol, et après les résultats par **Prasad et al. (2011)**, quand la concentration en éthanol passe de 32% à 65%, les CPT passent de 9,27 à 12,9 mg EAG/g respectivement est observé.

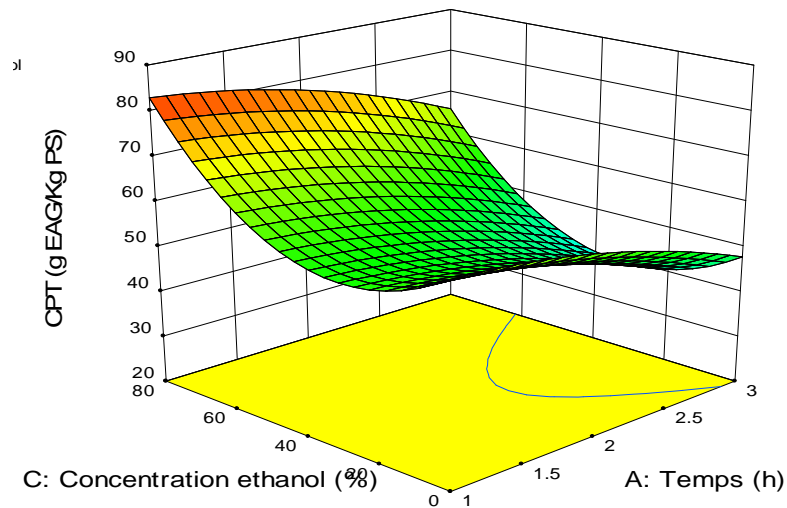


Figure 19 : Surface de réponse pour l'effet du temps d'extraction et de la concentration d'éthanol sur les CPT du laurier

L'effet de la combinaison entre la concentration en éthanol et la température de l'extraction a été représenté dans la **figure 20**. La température s'est avérée améliorer la récupération des composés phénoliques selon **Durling et al. (2007)** et **Silva et al. (2007)**.

La température élevée pourrait augmenter le taux d'extraction et réduire ainsi le temps de l'extraction nécessaire pour atteindre la teneur maximale en polyphénols. Cependant, température élevée peut ne pas convenir à tous les types de composés phénoliques (**Thoo et al., 2010**)

La température augmente la teneur en composés phénolique. Le maximum est atteint à 60°C. La combinaison entre la température et la concentration d'éthanol a montré une élévation positive de la teneur en CPT.

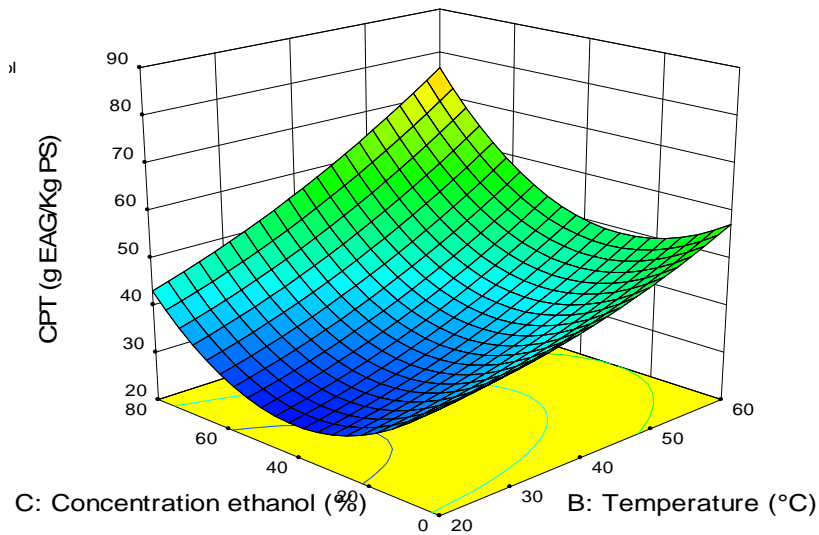


Figure 20 : Surface de réponse pour l’effet de la température d’extraction et la concentration du solvant sur les CPT du laurier.

V.3. Conditions optimales d’extraction des composés phénoliques à partir de la poudre de laurier :

Les conditions optimales de l’extraction des CPT ont été fournies par l’équation de régression de la méthodologie de surface de réponse et fourni par le logiciel JMP sont représenté dans la **figure 21** et le **tableau IX**.

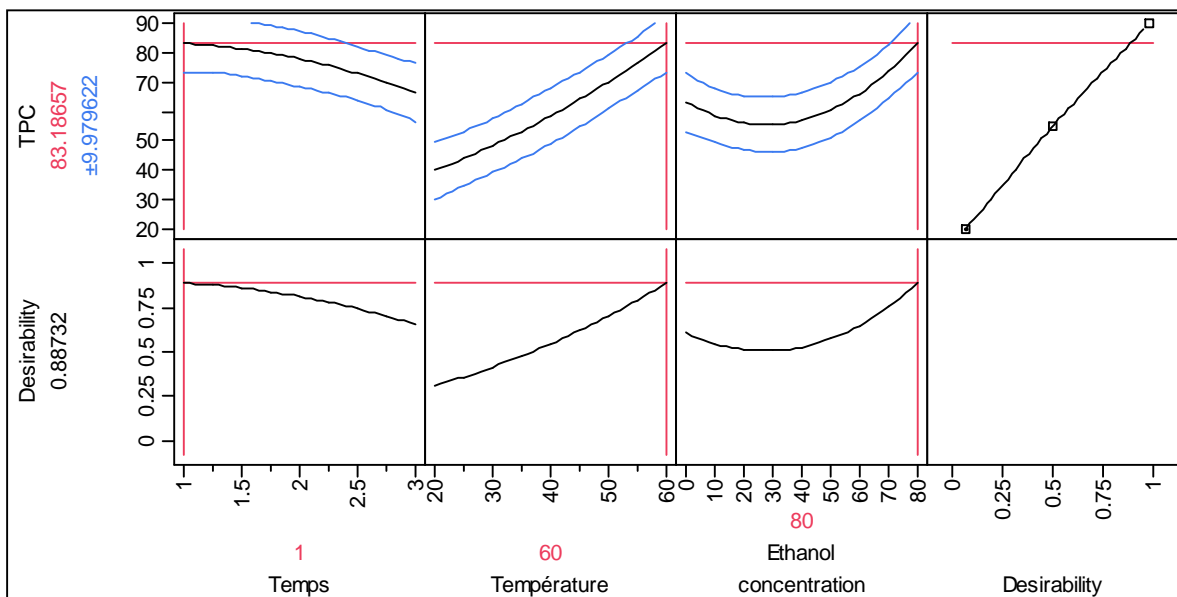


Figure 21 : Valeurs des paramètres optimaux de l’extraction des composés phénoliques

V.3.1. Validation du modèle :

Cette étude montre que le modèle utilisé peut décrire correctement le phénomène étudié car la valeur expérimentale est proche de la valeur prédite. Les conditions expérimentales optimales de l'extraction des composés phénolique sont montrées dans le **tableau VIII**

Tableau VIII : Comparaison entre les valeurs expérimentales et prédites en termes de teneur en CPT pour les paramètres optimaux.

| Temps h | Température C° | Concentration d'éthanol % | Valeurs expérimentales CPT (g EAG/kg de PS) | Valeurs prédites CPT (g EAG/kg de PS) |
|------------|-------------------|---------------------------------|---|---|
| 1 | 60 | 80 | 88.25±8,89 | 83.18±9,97 |

V.4. Composition de l'extrait de laurier :

V.4.1. Teneur en flavonoïde :

Depuis un certain temps, il est reconnu que plusieurs classes de flavonoïdes présentent une activité antioxydante vis-à-vis de divers composés facilement oxydable. Les flavonoïdes sont largement présents dans le règne végétal, et sont particulièrement fréquent dans les feuilles, les tissus circulant et le pollen (**Zhishen et al., 1999**).

La teneur en flavonoïdes de l'extrait de feuilles de laurier a été assez élevé, il a été d'ordre de 54,50 g EC/ kg de PS. Selon les étude mené par **Zhishen et al. (1999)** la teneur en flavonoïdes des feuilles de mûre est entre 11.7 et 26.6 mg/g. La comparaison entre les deux plantes a démontré que le laurier est très riche en flavonoïdes.

Tableau IX : Teneurs en CPT et en flavonoïdes de feuilles de laurier.

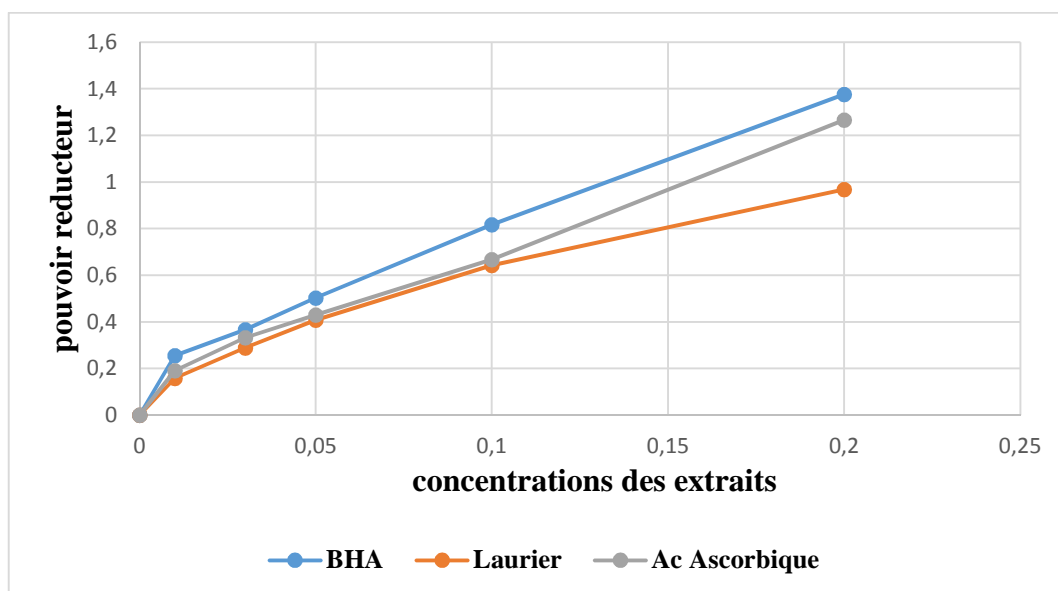
| | CPT g EAG/kg de PS | Flavonoïdes g EC/kg de PS |
|----------------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| Feuilles de laurier | 88.25±8,89 | 54.50±3,83 |

V.4.2. Activité antioxydante :

V.4.2.1. Pouvoir réducteur :

La capacité réductrice d'un composé peut servir d'indicateur de son activité antioxydante, et la présence de réducteur (antioxydant) cause la conversion du complexe Fe^3 /ferrucyanide en métaux ferreux (Bourgou *et al.*, 2008).

Le pouvoir réducteur de l'extrait des feuilles du laurier augmente avec l'augmentation de la concentration ce qui montre l'implication des composés phénoliques dans l'activité antioxydante des extraits. Les résultats de la détermination du pouvoir réducteur de l'extrait des feuilles du laurier ont été comparés à deux composés antioxydants purs, l'acide ascorbique et le BHA (hydroxy-anisole butyle). Les résultats montrent que l'extrait du laurier ne diffère que très peu des antioxydants purs, ce qui indique que la capacité réductrice de l'extrait est très élevée (figure 22).

**Figure 22** : Capacité réductrice de trois extraits (laurier, acide ascorbique et BHA).

V.4.2.2. Activité anti radicalaire DPPH :

Les radicaux libres DPPH peuvent être utilisés pour évaluer le pouvoir antioxydant d'un composé spécifique, ou un extrait de plante, dans un temps relativement court. Le radical est piégé par les antioxydants par le biais de dons d'hydrogène H pour former la molécule stable DPPH-H (Conforti et al., 2006; Pourmorad et al., 2006).

L'activité anti-radicalaire a été définie comme IC₅₀ (tableau X), qui est la concentration de l'extrait générant 50% d'inhibition. L'activité anti radicalaire envers le radical DPPH a montré un IC 50 très proche de celui du BHA un antioxydant de synthèse souvent utilisé comme additif pour la conservation des aliments et d'autres produits tels que les produits cosmétiques. Cependant, certaines études lui ont attribué un effet cancérigène. A cet effet il serait intéressant de le remplacer par les extraits du laurier.

Tableau X : IC₅₀ des trois extraits (laurier, acide ascorbique et BHA)

| | Laurier | Acide ascorbique | BHA |
|------------------------|---------|------------------|--------|
| IC ₅₀ mg/ml | 0.076 | 0.0058 | 0.0382 |



Conclusion

La présente étude a été consacrée à l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques du laurier noble par la Méthodologie de Surface de Réponse (MSR).

Une étude préliminaire a permis d'établir le domaine expérimental du plan d'expérience et de fixer le ratio solide/liquide à 1/50 (g/ml) et le nombre d'extractions à trois.

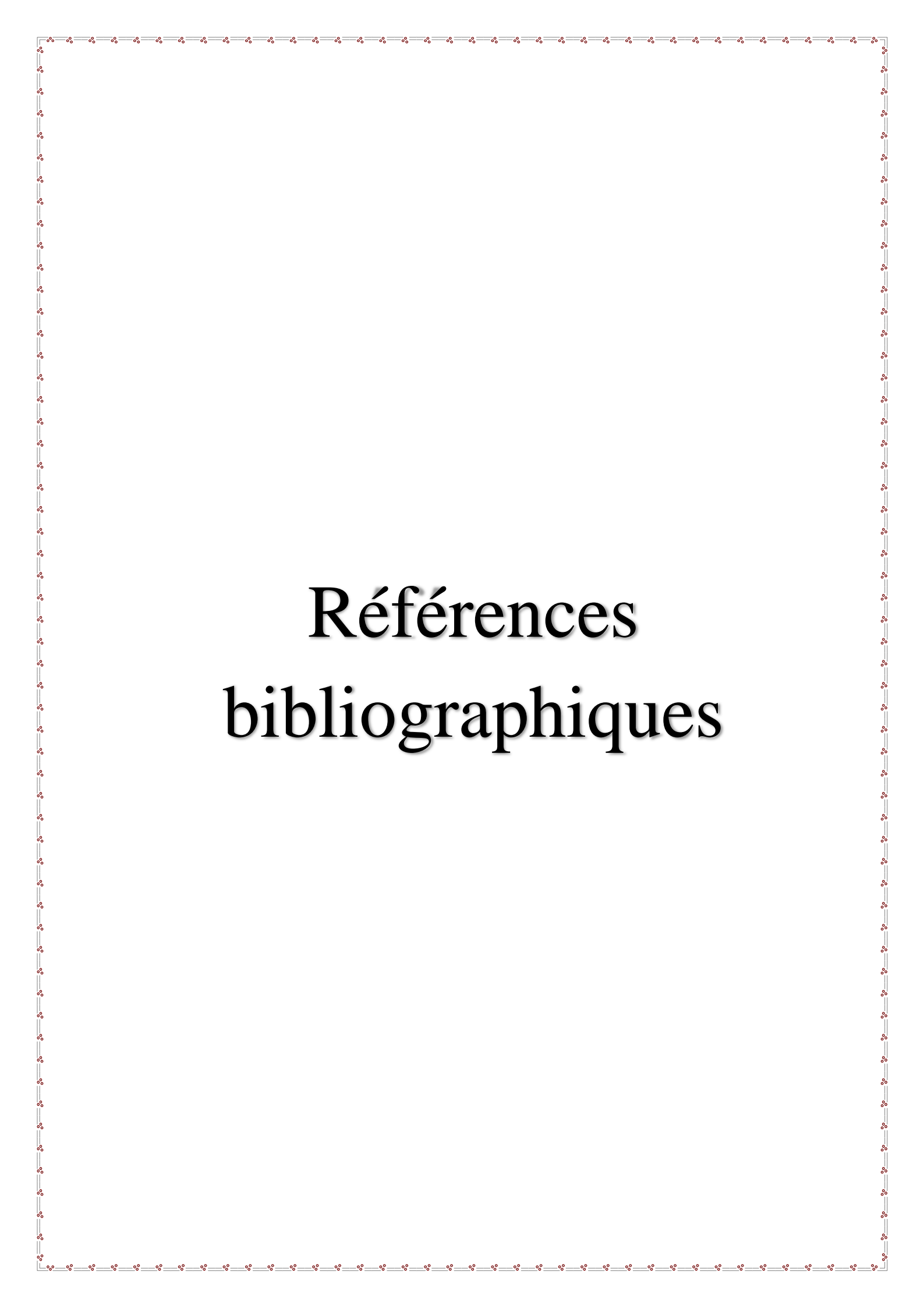
La MSR a permis d'étudier judicieusement l'influence des facteurs temps d'extraction, température d'extraction ainsi que la concentration en éthanol sur les rendements de l'extraction des composés phénoliques totaux (CPT) à partir du laurier noble.

L'optimisation des conditions optimales d'extraction des composés phénoliques par le biais d'un plan CCD a permis d'obtenir les résultats suivants : concentration d'éthanol 80%, le temps une heure et la température 60 C°. La teneur en composé phénolique totaux sous ces conditions était de $88.25 \pm 8,89$ g EAG/Kg PS ; cette valeur est proche de la valeur prédite par le plan d'expérience qui est de $83.18 \pm 9,97$ g EAG /Kg PS, ce qui affirme que le modèle est significatif avec un coefficient de corrélation R^2 égale à 0.93 qui certifie sa validité.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits optimisés du laurier noble indique un bon pouvoir réducteur et une bonne activité anti-radicalaire envers le radical DPPH qui s'approche de celui du BHA, un antioxydant de synthèse et de l'acide ascorbique. Ces derniers résultats montrent que les extraits du laurier noble constituent une bonne source d'antioxydants naturels et peuvent donc être employés comme conservateur pour prévenir l'oxydation des produits alimentaires et cosmétiques ou pour l'enrichissement des matrices alimentaires.

En terme de perspective et dans le but de compléter ce travail dans l'avenir, il serait intéressant de :

- Evaluer l'activité insecticide des huiles essentielles de feuilles et de baies.
- Rechercher la présence de d'autres métabolites secondaires tels que les alcaloïdes.
- Etudier d'autres activités biologiques (antibactérienne, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse...ect).
- Elargir la culture de la plante.
- Optimiser le ratio et le nombre d'extractions.
- Extraire les principes actifs par d'autres méthodes (assisté au micro-onde, ultrasons)



Références bibliographiques

A

Afifi, F., Khalil, E., Tamimi, S., Disi, A., 1997. Evaluation of the gastroprotective effect of *Laurus nobilis* seeds on ethanol induced gastric ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology* 58, 9-14.

Amarowicz, R., Pegg, R., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., Weil, J., 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry* 84, 551-562

Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K., 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 127, 183-198

Arslan-Alaton, I., Tureli, G., Olmez-Hanci, T., 2009. Treatment of azo dye production wastewaters using Photo-Fenton-like advanced oxidation processes: Optimization by response surface methodology. *Journal of photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 202, 142-153.

Azmir, J., Zaidul, I., Rahman, M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M., Ghafoor, K., Norulaini, N., Omar, A., 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering* 117, 426-436.

B

Baş, D., Boyacı, I.H., 2007. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of food engineering* 78, 836-845.

Bezerra, M.A., Santelli, R.E., Oliveira, E.P., Villar, L.S., Escaleira, L.A., 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta* 76, 965-977.

Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., Marzouk, B., 2008. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies* 331, 48-55.

Briot, C., 2016. Le laurier noble, plante des héros: aspects historiques, botaniques et thérapeutiques. Université de Lorraine.

Ƨ

Conforti, F., Statti, G., Uzunov, D., Menichini, F., 2006. Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* (Ucria) coutinho seeds. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 29, 2056-2064.

Ƨ

Dall'Acqua, S., Cervellati, R., Speroni, E., Costa, S., Guerra, M.C., Stella, L., Greco, E., Innocenti, G., 2009. Phytochemical composition and antioxidant activity of *Laurus nobilis* L. leaf infusion. *Journal of Medicinal Food* 12, 869-876.

Dent, M., Dragovic-Uzelac, V., Penic, M., Brncic, M., Bosiljkov, T., Levaj, B., 2013. The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. *Food technology and biotechnology* 51, 84.

Deve, A.S., Kumaresan, K., Rapheal, V.S., 2014. Extraction process optimization of polyphenols from Indian *Citrus sinensis*—as novel antiglycative agents in the management of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* 13, 11.

Durling, N.E., Catchpole, O.J., Grey, J.B., Webby, R.F., Mitchell, K.A., Foo, L.Y., Perry, N.B., 2007. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. *Food chemistry* 101, 1417-1424.

Dias, M.I., Barros, L., Dueñas, M., Alves, R.C., Oliveira, M.B.P., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C., 2014. Nutritional and antioxidant contributions of *Laurus nobilis* L. leaves: would be more suitable a wild or a cultivated sample? *Food chemistry* 156, 339-346.

Ƨ

El-Haci, I., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M., Didi, M., 2012. Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie* 10, 280-285.

G

Gilly, G., 2005. Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à grasse.

Gordon, M., 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro, Food antioxidants. Springer, pp. 1-18.

Han, X., Shen, T., Lou, H., 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. International Journal of Molecular Sciences 8, 950-988.

Goupy, J., 1999. Plans d'expériences pour surfaces de réponse.

Goupy, J., 2006. Plans d'expériences. Ed. Techniques Ingénieur.

Groupy, J., 2006. Les plans d'expérience. Revue Modulad.

H

Haddadi-Guemghar, H., Janel, N., Dairou, J., Remini, H., Madani, K., 2014. Optimisation of microwave-assisted extraction of prune (*P runus domestica*) antioxidants by response surface methodology. International journal of food science & technology 49, 2158-2166.

Han, X., Shen, T., Lou, H., 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. International Journal of Molecular Sciences 8, 950-988.

Hanrahan, G., Lu, K., 2006. Application of factorial and response surface methodology in modern experimental design and optimization. Critical Reviews in Analytical Chemistry 36, 141-151.

J

Jakobek, L., Matic, P., 2018. Non-covalent dietary fiber-polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility. Trends in food science & technology.

Julianti, E., Jang, K.H., Lee, S., Lee, D., Mar, W., Oh, K.-B., Shin, J., 2012. Sesquiterpenes from the leaves of *Laurus nobilis* L. Phytochemistry 80, 70-76.

K

Karima, O.Y., Boumedienne, M., touil Aicha, T., 2015. ETUDE DE L'EFFET D'HUILE ESSENTIELLE DE LAURIER NOBLE DE L'OUEST ALGÉRIEN SUR SALMONELLA SPP. IN VITRO ET IN VIVO. European Scientific Journal, ESJ 11.

L

Liyana-Pathirana, C., Shahidi, F., 2005. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. Food chemistry 93, 47-56.

M

Macheix, J.-J., 1996. Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? Acta botanica gallica 143, 473-479.

Macheix, J.-J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.

Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N., 2013. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Nature & Technology, 35.

Muñiz-Márquez, D.B., Martínez-Ávila, G.C., Wong-Paz, J.E., Belmares-Cerda, R., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar, C.N., 2013. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. Ultrasonics sonochemistry 20, 1149-1154.

N

Nayak, S., Nalabothu, P., Sandiford, S., Bhogadi, V., Adogwa, A., 2006. Evaluation of wound healing activity of *Allamanda cathartica* L. and *Laurus nobilis* L. extracts on rats. BMC Complementary and Alternative Medicine 6, 12.

P

Paul, I., Michel, M., Pierre, K.J., 2001. Larousse encyclopedie des plantes medicinales. Identifications, Préparations, Soins, VUEF, Pris 335p.

Pereira, D., Valentão, P., Pereira, J., Andrade, P., 2009. Phenolics: From chemistry to biology. Molecular Diversity Preservation International

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S., Shahabimajd, N., 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African journal of biotechnology 5.

Prasad, K.N., Hassan, F.A., Yang, B., Kong, K.W., Ramanan, R.N., Azlan, A., Ismail, A., 2011. Response surface optimisation for the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities of underutilised *Mangifera pajang* Kosterm. peels. Food chemistry 128, 1121-1127.

Q

Quezel, P., Santa, S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et Méridionales, Tome II. Edition CNRS, Paris.

R

Rahman, I., Biswas, S.K., Kirkham, P.A., 2006. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. Biochemical pharmacology 72, 1439-1452.

Reynaud, J., 2002. La flore du pharmacien. Technique & Documentation.

S

Saab, A.M., Tundis, R., Loizzo, M.R., Lampronti, I., Borgatti, M., Gambari, R., Menichini, F., Esseily, F., Menichini, F., 2012. Antioxidant and antiproliferative activity of *Laurus nobilis* L.(Lauraceae) leaves and seeds essential oils against K562 human chronic myelogenous leukaemia cells. Natural product research 26, 1741-1745.

Santoyo, S., Lloria, R., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F., Reglero, G., 2006. Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization. *European Food Research and Technology* 222, 565.

Silva, E., Rogez, H., Larondelle, Y., 2007. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology* 55, 381-387.

Ślusarczyk, S., Hajnos, M., Skalicka-Woźniak, K., Matkowski, A., 2009. Antioxidant activity of polyphenols from *Lycopus lucidus* Turcz. *Food chemistry* 113, 134-138.

Sokół-Łętowska, A., Oszmiański, J., Wojdyło, A., 2007. Antioxidant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. *Food chemistry* 103, 853-859.

Speroni, E., Cervellati, R., Dall'Acqua, S., Guerra, M.C., Greco, E., Govoni, P., Innocenti, G., 2011. Gastroprotective effect and antioxidant properties of different *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Journal of Medicinal Food* 14, 499-504.

Spigno, G., Tramelli, L., De Faveri, D.M., 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food engineering* 81, 200-208.

Swahn, J.-Ö., Ciano, M., 1993. *Lés épices*. Gründ.

J

Teuscher, E., Anton, R., Lobstein, A., 2005. *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc.

Thoo, Y.Y., Ho, S.K., Liang, J.Y., Ho, C.W., Tan, C.P., 2010. Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food chemistry* 120, 290-295.

Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* 2, 1231-1246.

W

Wang, S., Chen, F., Wu, J., Wang, Z., Liao, X., Hu, X., 2007. Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *Journal of food engineering* 78, 693-700.

Y

Yahiaoui, I., Aissani-Benissad, F., Aït-Amar, H., 2010. Optimization of silver cementation yield in fixed bed reactor using factorial design and central composite design. *The Canadian Journal of Chemical Engineering* 88, 1099-1106.

Z

Zern, T.L., Fernandez, M.L., 2005. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *The Journal of nutrition* 135, 2291-2294.

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry* 64, 555-559.



Annexes

Annexe 1 : courbes d'étalonnages.

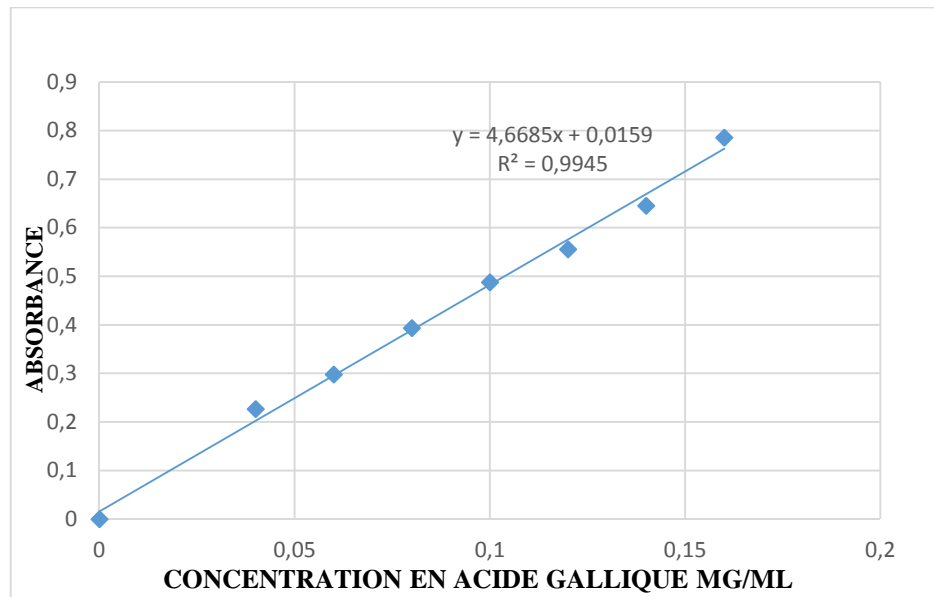


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des CPT

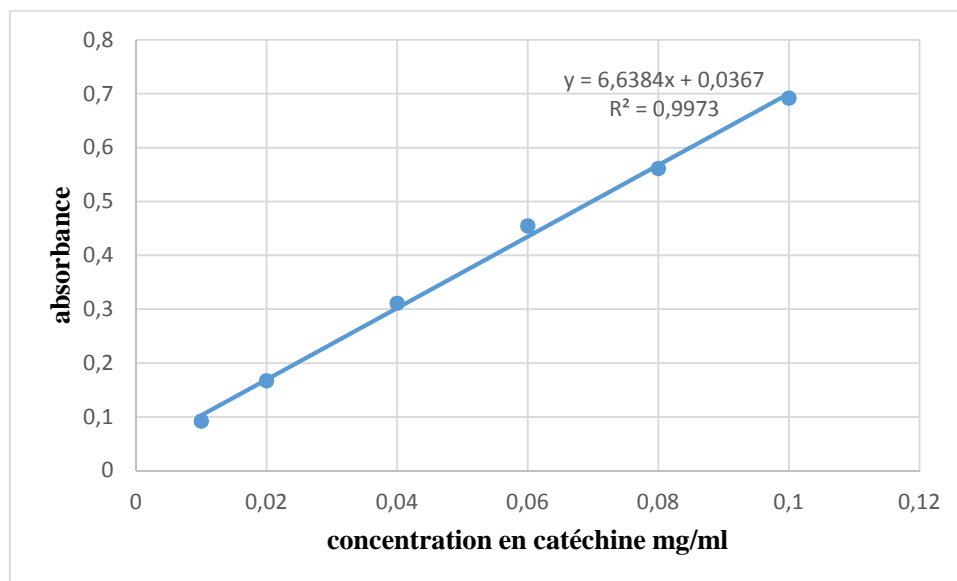


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

Résumé

Dans cette étude, l'extraction par macération a été utilisée pour extraire les composés phénoliques à partir des feuilles de laurier (*laurus nobilis L.*). L'effet de trois variables indépendantes, concentration en éthanol, temps, température d'extraction sur le rendement d'extraction des composés phénoliques totaux (CPT) a été évalué en utilisant la méthodologie de surface de réponse (MRS). Les conditions optimales d'extraction permettent d'obtenir un meilleur rendement d'extraction en CPT de 80% pour la proportion de l'éthanol, 60°C pour la température et 1h pour le temps. Une quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante (pouvoir anti-radicalaire et pouvoir réducteur) sur l'extrait de laurier a été réalisée. Les résultats obtenus indiquent des teneurs en CPT de $88,25 \pm 8,89$ g EAG/kg de poudre sèche et de $54,50 \pm 3,83$ g EC/kg de poudre sèche pour les flavonoïdes. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits optimisés du laurier noble indique un bon pouvoir réducteur et une bonne activité anti-radicalaire envers le radical DPPH qui s'approche de celui du BHA.

Mots clé : optimisation, composés phénolique, laurier, macération, méthodologie de surface de réponse.

Abstract

In this study, maceration was used for other phenolic compounds from laurel leaves (*laurus nobilis L.*). The effect of three independent variables, time ethanol concentration, extraction temperature on total phenol extraction yield (CPT), were evaluated using the Surface Response Methodology (SRM). The optimal extraction conditions make it possible to obtain a better extraction yield in CPT of 80% for the proportion of ethanol, 60 ° C for the temperature and 1h for the time. A quantification of the total polyphenols and flavonoids as well as the evaluation of the antioxidant activity (anti-radical and reducing power) on the extract of the laurel summer. The results were calculated as CPT 88.25 ± 8.89 g EAG / kg dry powder at 54.50 ± 3.83 g EC / kg dry powder for flavonoids. The antioxidant activity of the optimized extracts of the laurel leaves a good reducing power and a good anti-radical activity towards the radical DPPH which approaches that of the BHA.

Key words: optimization, phenolic compounds, laurel, maceration, response surface methodology.